

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1958

THÈSE

610

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

François, Arthur, René, Marie de La TOUR du PIN

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Né le 1^{er} Mars 1934, à BOULOGNE-BILLANCOURT (Seine)

présentée et soutenue publiquement le

HISTOIRE DE L'HEMOCULTURE

Président : Monsieur P. MOLLARET (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir Delavigne
PARIS VI

1958

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

--

Année 1958

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

François, Arthur, René, Marie de La TOUR du PIN
Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
né le 1er mars 1934 à Boulogne-Billancourt
(Seine)

--

Présentée et soutenue publiquement
le

--

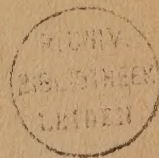
HISTOIRE DE L'HEMOCULTURE

--

Président : Monsieur P. MOLLARET (Professeur)

--

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS
1958.



PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BENARD, BROCC, CADENAT, CARNOT, CHABROL,
 CHAMPY, CHEVASSU, DEBRE, DELBET, DONZELOT,
 GASTINEL, GUILLAIN, HALPHEN, HARVIER, LAROCHE G.,
 LAUBRY, LEMAITRE, LEVY-SOLAL, LHERMITTE, LIAN,
 LOEPER, MARION, MATHIEU, MOCQUOT, MONDOR, MULON,
 OLIVIER, OMBREDANNE, RICHET, SANNIE, TANON,
 VELTER.

DOYEN Léon BINET
 Membre de l'Institut
 ASSESSEUR Jean VERNE

I. PROFESSEURS

	MM
Anatomie	CORDIER
Anatomie pathologique	DELARUE
Bactériologie	FASQUELLE
Biologie app. à l'Education) phys. et aux Sports	CHAILLET-BERT
Biologie Médicale	FAUVERT
Cancérologie méd. et sociale	BERNARD J.
Carcinologie	OBERLING
Chimie Méd.	JAYLE
Clinique Chir. {	Hôtel-Dieu
	Broussais
	Salpêtrière
	Cochin
Clin. chir. cardio-vasc.	G. d'ALLAINES
Clinique Chir. réparatrice et orthop.	MERLE d'AUBI- GNE
Clinique de Cardiologie	MOUQUIN
Clinique Chir. infantile et d'orthop.	FEVRE
Clinique Chir. pleuro-pulm.	MONOD
Clinique de la Tuberculose	BERNARD E.
Clinique de neuro-chir.	PETIT-
	DUTAILLIS
Clinique de Puéricult.	LELONG
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS
Clinique des mal. du sang	CHEVALLIER
Clinique mal. du système nerv.	ALAJOUANINE
Clinique des maladies des enf.	CATHALA
Clinique des maladies infect.	MOLLARET

Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY
Clinique du diabète sucré et des maladies de la nutrition	BOULIN
Clinique Gynécologique	F. BRENTANO BARIETY J. BESANÇON MOREAU de GENNES
Cliniques Médicales	DEBRAY PASTEUR V.-R. LANTUEJOUL VARANGOT LACOMME
Clinique méd.hydro-climat.thér.	RENARD
Clinique médicale propédeutique	AUBIN
Cliniques Obstétricales	HAMBURGER
Clinique ophtalmologique	HEUYER
Clinique oto-rhino-laryngologique	COSTE
Clinique physio-pathol. des problèmes alimentaires	DECHAUME
Clinique psychiatrique infantile	FEY
Clinique rhumatologique	GIROUD
Clinique stomatologique	LAMY
Clinique urologique	SOULIE
Embryologie	VERNE
Génétique	TURPIN
Histoire de la Méd.et de la Chir.	JOANNON
Histologie	DESOILLE
Hygiène et Clinique lère Enfance	PIEDELIEVRE
Hygiène et Méd. Préventive	GALLIARD
Médecine du Travail	N...
Médecine Légale	LAVIER
Parasitologie et hist.nat.méd.	LENEGRE
Pathologie chirurgicale	MERKLEN
Pathologie exotique	DECOURT
Path. expérimentale et comparée	GARCIN
Path. Hum. et Immun. exp.	Julien MARIE
Pathologie médicale	HAZARD
Path. et Thérapeut. générales	DOGNON
Pédiatrie sociale	BINET
Pharmacologie et matière méd.	STROHL
Physico-chimie méd.(ch.t.pers.)	DESGREZ
Physiologie	PATIEL
Physique médicale	BROUET
Radiologie médicale	SENEQUE
Technique Chirurgicale	LEMAIRE
Thérapeutique	
Thérapeutique chirurgicale	
Thérapeutique médicale	

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

	MM.		MM.
	(CABROL	Parasito.	BRUMPT
Anatomie	(DEBEYRE	Parasito.	CHABAUD
	(DELMAS		ABOULKER
	(OLIVIER G.		BARCAT
	(Melle GAU-		BAUMANN
Ana. Path.	(THIER V.		CAUCHOIX
	(BUSSE		DUBOST
	(GOUYGOU		FAUREL
Bactériolo-	(CHRISTOL	Pat. chir.	FLABEAU
gie	(NEVOT		GERMAIN
Biol. Méd.	(BOURLIERE		GOSSET
	(DESGREZ		LAURENCE
Chimie méd.	(ETTORI		LORTAT-JACOB
	(POLONOVSKI (J)		MATHEY
	(SCHAPIRA		OLIVIER (Cl.)
Dermato-syphil.	(DUPERRAT		POILLEUX
Embryologie	(TUCHMANN		THOMERET
	(BULLIARD		VERNE (J M)
Histologie	(COUJARD	Pat. expé-	(LOEPER
	(N..	riment.	MAURICE
Hydrologie	(CORNET		(BOUVIER
	(BOYER		BOUDIN
Hygiène	(DEPARIS		BRICAIRE
Mal. infect.	(BASTIN		BRISSAUD
Médecine	(ALBAHARY		CASTAIGNE
légale et	(DEROBER		COMTE
du	(GAULTIER		DEROT
Travail	(HADENGUE	Pat. méd.	DOMART
Neurochir.	(DAVID		LAMOTTE
Neurologie	(LHERMITTE		LAROCHE
	(GRASSET		MACREZ
	(LE LORIER		MILLIEZ
	(LEPAGE		PEQUIGNOT
Obstétrique	(MERGER		PERRAULT
	(MORIN		RAMBERT
	(RAVINA		ROYER
	(ROBEY		THIEFFRY
	(BREGEAT		TURIAF
Ophtalmologie	(DESVIGNES		WOLFRAMM
	(JUDET		JOSEPH
Orthopédie	(AUBRY	Pédiatrie	(POLONOVSKI Cl.
Oto-rhino-	(MADURO		MOZZI CONACCI
laryngo.			

	MM.		MM.
Pharmacol.	{ Melle LEVY	Psychiatrie	{ BARUK
	{ CHEYMOL		{ PICHOT
Physiol.	{ BARGETON	Psych. infant.	{ MICHAUX
	{ DEJOURS	Rhumatologie	{ DELBARRE
Physique } {	{ PARROT	Stomatologie	{ CHAPUT Mme
Médicale } {	{ DJOURNO		{ CERNEA
Pneumo-phtis.	{ GOUGEROT	Thérapeut.	{ CHASSAGNE
	{ KREIS	Urologie	{ KUSS

III. PROFESSEURS HONORAIRES
et AGREGES RAPPELES à l' EXERCICE
pour le Service des Examens

MM. GATELLIER, LE LORIER, VAUDESCAL

IV. PROFESSEURS SANS CHAIRE ET
AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
A TITRE PERMANENT

	MM.		MM.
	{ AMELINE	Clinique opt.	{ OFFRET
	{ HUGUIER	Urologie	{ COUVELAIRE
Clinique } {	{ LEGER	Clinique } {	{ DREYFUS
chir. } {	{ PADOVANI	méd. } {	{ HAGUENAU
	{ ROUX		{ KOURILSKY
	{ RUDLER		{ MARCHAL
Clinique } {	{ ECALLE		
obstétr. } {	{ MAYER		

Secrétaire Général de la Faculté..... M. MOREL
Secrétaire-Adjoint..... Melle CHAINTREUIL

Bibliothécaire en Chef..... Dr HAHN
Conservateur..... Melle GOICHON
..... { Melles DUMAITRE
Bibliothécaires..... { LE NOIR
..... { METIN
..... { QUIEVREUX

Par délibération en date du 9 décembre 1798,
l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans
les dissertations qui lui seront présentées,
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner
aucune approbation ni improbation.

A mes Parents

A qui je dois d'avoir pu
mener à bonne fin mes
études de Médecine.

A mes Frère et Soeurs.

A mes Amis

A mon Président de Thèse

Monsieur le Professeur P. MOLLARET

Professeur de Clinique des Maladies Infec-
tieuses à la Faculté de Médecine de
Paris

Médecin de l'Hôpital Claude-Bernard
Chef de Service à l'Institut Pasteur

Que je prie de bien vouloir
trouver ici l'expression de
toute ma reconnaissance.

A mon Maître,

Monsieur le Docteur Robert WORMS

Qui m'a donné le sujet de
cette thèse et m'a constam-
ment aidé dans sa réalisation.

En témoignage de gratitude pour
tout ce que j'ai appris comme
externe dans son service de
l'Hôpital Lariboisière.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux
et à la Faculté de Médecine

et notamment en mémoire de mon Externat :

Monsieur le Docteur OBERLIN
Monsieur le Professeur Guy LAROCHE
Monsieur le Professeur RAMBERT
Monsieur le Docteur GROSSIORD
Monsieur le Docteur RUBENS-DUVAL

HISTOIRE DE L'HEMOCULTURE

- :-

Le sujet de cette thèse - "Histoire de l'hémoculture" - nous a été donné par notre maître, Monsieur le Docteur Worms, alors que nous étions externe dans son service de l'Hôpital Lariboisière.

Le Docteur Worms s'était étonné que l'acquisition d'une technique satisfaisante d'hémoculture n'eût suivi que d'assez longtemps les premiers progrès de la bactériologie. Un texte de Straus devait lui en donner la raison, en lui montrant de quelle importance pouvait être un simple détail d'instrumentation.

"Tous ceux qui s'occupent de recherches bactériologiques", écrivait Straus en 1886, "savent combien il est important de se servir de seringues susceptibles d'être purgées de tout germe par le séjour dans l'eau bouillante ou par la chaleur sèche". Or les modèles existant à l'époque possédaient un piston et des joints en rondelles de cuir - que la stérilisation racornissait irrémédiablement. Faute de matériel approprié, on en était resté, depuis Pasteur, au prélèvement sanguin par piqure de la pulpe du doigt. C'est après la découverte de Straus - qui fait faire une seringue stérilisable à piston en moelle de sureau - que l'hémoculture pourra donner des résultats de valeur réelle.

De là, le Docteur Worms s'était reporté au texte de Sittmann, qui en Allemagne et à la même époque, notons cette coïncidence, avait suivi les mêmes résolutions que Straus.

Le Docteur Worms nous a confié ces textes en nous incitant à chercher, de l'époque pré-Pastorienne à nos jours, les diverses étapes par lesquelles étaient passées les méthodes d'ensemencement du sang pendant la vie.

--:--

L'EPOQUE PRE-PASTORIENNE

--

La mise en évidence de germes pathogènes dans le sang circulant et leur culture dans un milieu approprié sont naturellement liées aux débuts de la bactériologie. Si la notion de transmission d'une infection par voie sanguine était déjà connue auparavant, comme nous le verrons, l'idée de cultiver ce sang est nécessairement en rapport étroit avec la conception de germes pathogènes autonomes, vivants, donc pouvant se multiplier, et partant, être cultivés. Aussi longtemps que la "purulence" a été considérée comme un phénomène strictement endogène, prenant naissance par modifications de parties d'un individu sans aucun apport extérieur, l'idée d'isoler un agent pathogène ne semblait pas même concevable.

Il est fort intéressant - pourtant - de savoir que, bien avant l'ère Pastorienne, l'existence de corpuscules inhabituels chez l'individu normal et le rôle que de tels corpuscules pouvaient jouer dans une maladie, avaient été mis en évidence. Et pour cela, il faut remonter loin dans le temps - c'est-à-dire à l'époque où Leuwenhoek observait et dessinait, à l'aide des microscopes construits par lui, les premières "bactéries" connues. Vers 1660, c'est-à-dire un peu avant les observations de Leuwenhoek (1676), Kircher avait l'idée de faire des études microscopiques, sans doute les premières en date, sur du "matériel en

putréfaction" - et même - notons-le, sur du sang de malades atteints de peste. A une époque où cependant aucune des hypothèses sur l'origine et la transmission des maladies qui naîtront aux siècles suivants n'avait été soulevée - il découvrit des "corpuscules animés" qui, déclara-t-il, constituaient les "effluves" transmettant de nouvelles semences de contagion. Il n'est pas question, évidemment, de la nature de tels corpuscules, - mais le fait même d'avoir recherché par examen microscopique de tissus ou de liquides de l'organisme - les modifications qu'une maladie pouvait y entraîner, nous montre comment de telles idées et de telles méthodes allaient dans le cours des deux siècles suivants nous mener à Pasteur.

Il s'agit là de faits isolés, voire uniques, et nul ne parle de culture, bien entendu - que ce soit du sang ou d'une autre source. En 1775, Spallanzani s'intéressera de plus près à ces "germes" nouvellement découverts. Il observe des bactéries, fait quelques tentatives de culture en milieu stérile et même signale des formes anaérobies. Mais il ne saura interpréter l'importance de ces découvertes et de ces méthodes. Il faudra attendre le siècle suivant, et même le milieu du 19ème siècle, pour qu'il y ait des faits nouveaux dans ce domaine.

Quelles étaient donc avant 1850 les opinions en ce qui concerne les rapports du sang et des maladies humaines. Il n'est pas sans intérêt de s'y arrêter un peu - car si le rôle et le passage de bactéries dans le sang est totalement inconnu - de nombreux auteurs n'avaient pas été sans observer que maladies et altérations du sang allaient de pair. Ces observations avaient été faites sur les cadavres autopsiés, mais à l'occasion de saignées - on avait également remarqué des

altérations sanguines in vivo.

Si nous ouvrons le "Traité de Médecine Pratique et de Pathologie iatrique ou médicale" de Piorry, paru en 1847, nous trouvons un tome consacré aux "Anomohémies" - c'est-à-dire aux altérations du sang et aux "états pathologiques dont le sang est susceptible".

Tout d'abord, au chapitre "Pyohémie ou Pyémie", nous remarquons une prise de position particulièrement intéressante, à savoir que "la présence du pus dans le sang ne peut être considérée comme un état primitif, mais comme un phénomène consécutif à d'autres affections", telles que phlébites, collections de pus dans les cavités... A partir de ces foyers, le pus qui y stagne peut être "absorbé" dans le sang puis transporté par lui jusqu'à un organe voisin. Si on pratique alors une saignée, on observe que le sang prélevé se couvre dans le récipient d'une couenne grisâtre ou verdâtre, contenant une multitude de granulations de même couleur. En général, le pus ne vient pas de la transformation du sang lui-même, mais "c'est dans les tissus - et par suite de l'absorption de ses parties les plus liquides, qu'il revêt les caractères qui lui sont propres."

Ces notions ne changeront guère, si ce n'est quant à la nature de "ce qui est transporté", par la suite. Le sang du sujet vivant peut donc transporter le pus d'un organe où il s'est formé - foyer initial - à une autre partie de l'organisme.

D'autres auteurs ont des théories intéressantes en ce qui concerne la formation du pus et son transport dans le sang.

Pour Velpeau et Maréchal, le pus pénètre

dans les veines par ouverture ou effraction de la paroi. Pour Dance, Blandin et Cruveilhier, il est formé par la paroi elle-même - qui s'enflamme de proche en proche, et se mêle au sang. Enfin il pourrait filtrer "molécule par molécule" à travers cette paroi. Ce pus, transporté par le sang ne serait particulièrement nocif, et agent de septicémie, que s'il y a "contracté de la putridité". Il pourra s'arrêter dans les petits capillaires et déclencher alors la formation d'abcès locaux.

Nous arrivons un peu plus loin au chapitre intitulé "septicémie", c'est-à-dire, pour Piorry, à la notion d'altération du sang par les matières putrides. Piorry souligne le fait que le sang n'y est pas putréfié (car la mort en serait la conséquence immédiate). Selon lui, et sans doute selon beaucoup de ses contemporains, la véritable septicémie est "l'altération du sang qui résulte : soit de la résorption des matières putrides qui s'écoulent des nécrosies dermiques, entériques, soit de l'absorption de gaz ou de miasmes septiques très actifs".

Il y a donc une nette différence entre pyémie et septicémie - mais on peut se demander ce que - face aux conceptions actuelles - les contemporains de Piorry entendent par septicémie, étant donné qu'il n'existe pas la moindre notion, bien entendu, de germes ou de "corpuscules animés". On est plus proche de ce que l'on peut nommer une toxémie, mais il est difficile de savoir la nature des "miasmes septiques très actifs" dont parle Piorry.

Le sang prélevé au cours d'une telle affection est peu modifié - seul le caillot a un aspect spécial et une consistance plus molle. Cliniquement, l'état stuporeux, le délire fréquent alternant avec cette stupeur, l'aspect

amaigri, cadavérique du sujet, peuvent faire porter ce diagnostic. Les causes les plus fréquentes de "septicémie" selon Piorry sont les gangrènes étendues (peau ou membre) et la respiration d'un "air putride" dans des conditions de vie peu hygiéniques. Enfin, si le pus de la pyémie devient putride, on voit cliniquement un passage à la septicémie.

Donc "septicémie" à l'époque a un sens bien différent de celui que nous lui donnons actuellement, du moins en ce qui concerne la pathogénie de cette affection. Cependant, faute de moyen de diagnostic approprié, et si l'on excepte la pyémie proprement dite, Piorry a dû ranger dans ce cadre aussi bien des affections à détermination toxique - bactériennes ou non - et les véritables septicémies au sens actuel du terme, mais où l'agent réel demeurait ignoré.

Nous arrivons ainsi à 1850. Cette date marque un passage - important pour le sujet qui nous occupe - de l'ère des "miasmes", responsables des maladies, à l'ère microbienne - qui ne sera vraiment ouverte qu'avec Pasteur. Certaines découvertes - cependant - présentent un indiscutable intérêt.

En 1850, Davaine observe dans le sang d'un mouton mort de ce que l'on appelait à l'époque "sang de rate" des bâtonnets plus ou moins longs et flexueux. Cette maladie est ce que nous désignons maintenant sous le nom de charbon et les bâtonnets sont les actuelles bactéries charbonneuses.

Notons cependant que Davaine ne les rend pas tout d'abord responsables de cette maladie. Elles existent comme épiphénomène, en quelque sorte - mais ne sont pas les agents transmetteurs du "sang de rate". Par ailleurs, c'est

par l'examen direct du sang des animaux - prélevé à la phase terminale de la maladie - que Davaine peut observer ces bactériidies. Aucune culture ni enrichissement préalable n'est alors nécessaire pour les voir, en raison de leur grande abondance.

Ce n'est que longtemps après - et sous l'impulsion de Pasteur - que Davaine reviendra sur sa découverte et établira une relation de cause à effet entre ces germes et la maladie. Dans son rapport à l'Académie des Sciences ("Recherche sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de "sang de rate"), en 1863, il revient sur cette question :

"En 1850", écrit Davaine, "j'ai pu examiner avec Monsieur Rayer plusieurs cas de cette maladie... J'ai pu donc, dès cette époque, faire des recherches sur la constitution du sang... Dans une première observation, le sang examiné au microscope huit à dix heures après la mort, m'offrit un très grand nombre de bacterium... Le court espace de temps qui avait existé entre le moment de la mort et celui de notre examen me portait à penser qu'ils avaient préexisté à la mort des animaux qui nous les offraient". Du charbon, Davaine passe aux maladies infectieuses en général, dont il pressent la nature :

"Il y a longtemps que des médecins ou des naturalistes ont admis théoriquement que les maladies contagieuses - les fièvres épidémiques graves... sont déterminées par des animalcules invisibles ou par des ferments - mais je ne sache pas qu'aucune observation positive soit jamais venue confirmer ces vues". Quant à ces bactériidies "leur relation avec la maladie qui a entraîné la mort ne peut être mise en doute".

D'autres auteurs , à peu près à la même époque (1860) poursuivent des recherches sur le

charbon. Straus cite notamment les travaux de Delafond à Alfort sur des animaux charbonneux.

Delafond ne se contente pas d'observer directement les bâtonnets dans le sang. Dans le dessein de prouver leur parenté végétale, il tente de les cultiver en dehors de l'organisme malade : nous pouvons déjà parler d'hémoculture...

Le sang des animaux atteints est prélevé, chez l'animal vivant comme sur le cadavre. Il contient les bactériidies dont l'auteur veut observer le développement. Pour cela, le sang est "déposé dans de petits vases en verre à ouverture élargie et placés à l'air libre... Après quatre jours, les baguettes avaient augmenté du double et du triple de leur longueur..."

Comme nous le voyons, Delafond n'ajoute aucun milieu nutritif. La "culture" de ces éléments ne sert nullement à les rendre observables dans un milieu où ils n'existent qu'à l'état d'unités mais simplement à étudier leurs variations morphologiques. Un peu plus loin, il ajoute :

"Quoi qu'il en soit, il me paraît, je ne puis dire certain, mais pourtant extrêmement probable que dans le sang vivant des animaux atteints de fièvre charbonneuse circulent quelque temps avant la mort et se multiplient ... des filaments d'origine végétale, pouvant s'accroître lorsque le sang retiré des vaisseaux est mis dans des conditions favorables à la végétation".

Straus conclut en disant que pour montrer la nature de ces bâtonnets trouvés dans le sang de l'animal charbonneux "Delafond a trouvé l'argument décisif, la culture... en dehors

de l'économie... A ces divers points de vue, il faut reconnaître que Delafond a été un véritable précurseur".

C'est Koch, en 1876, qui obtiendra en culture pure, sur milieu approprié, le bacille du charbon reconnu comme tel. Mais l'idée qu'au cours d'une maladie - chez le vivant comme dans le cadavre - un germe pouvait se développer et être mis en évidence par examen du sang au microscope - était lancée. Nous devons attendre Pasteur pour évoquer une relation de causalité entre germes dans le sang et affection de type septicémique, mais l'existence de tels germes dans le sang avait déjà été constatée par certains de ses prédécesseurs.

A cette époque, se joue une des luttes les plus célèbres dans l'histoire de la médecine. - une de celles qui aura le plus de conséquences quant à la notion de maladies et à leurs thérapeutiques. Elle se livre entre Pasteur et ses partisans - soutiens convaincus de la théorie bactérienne - et les nombreux savants ou médecins pour qui la maladie vient uniquement de modifications des constituants du corps, spontanément ou sous l'influence de "miasmes" mal définis.

"La maladie est en nous, de nous, par nous", dira H. Pidoux, membre de l'Académie de Médecine. Or Pasteur prouvera par de nombreuses expériences - et l'emploi de méthodes jusque là inconnues ou peu s'en faut - les liens de causalité entre germes vivants figurés et maladies. Au nombre de ces méthodes figure la culture du sang - humain ou animal - sang prélevé sur le sujet vivant. C'est le premier emploi de l'hémoculture comme moyen de diagnostic en pathologie et ces quelques années marquent le véritable début de la méthode.

PASTEUR ET L'HEMOCULTURE

-:-

Parmi les innombrables travaux de Louis Pasteur, il en est deux catégories où apparaît le rôle important que joue - dès 1865 - l'hémoculture. Il s'agit des recherches si connues sur le charbon, d'une part ; et d'autre part d'un certain nombre de travaux groupés sous le titre "La théorie des germes - Son application à la médecine et à la chirurgie" - paru en avril 1878. En réalité, les deux ordres de recherches ont pratiquement été menés de front et, dès la reconnaissance des germes responsables du charbon dans le sang, Pasteur a appliqué des méthodes analogues aux germes - jusque là non reconnus responsables des septicémies et d'autres affections humaines.

Nous avons vu précédemment que Davaine, en 1863, était revenu sur ses travaux concernant la maladie "du sang de rate", et, qu'avec Pasteur, il pensait que les bactériidies étaient responsables de la maladie. Au moment de l'agonie, il devenait facile d'observer la bactériodie par examen direct du sang au microscope. Pour confirmer cette origine du charbon et prouver que le germe n'est pas un élément accessoire, accompagnant la putréfaction du sang, il montre que ce dernier peut être cultivé indéfiniment en dehors de l'organisme sans perdre sa virulence. "Pour affirmer qu'un organisme microscopique est agent de maladie ou de contagion", dit-il, "je ne vois d'autre

moyen que de soumettre le microbe à la méthode de cultures successives en dehors de l'économie". Et bien entendu, si ce germe se multiplie en particulier dans le sang - qu'il est facile de prélever - c'est une véritable hémoculture qu'envisage Pasteur. "Si le sang est extrait du corps de l'animal charbonneux par des procédés semblables à ceux que j'ai employés jadis pour constater que le sang de l'économie est pur, on constate que ce sang charbonneux est imputrescible et que la bactériodie seule peut continuer de s'y développer. En conséquence, il devient facile d'avoir la bactérie à l'état de pureté, de la cultiver dans ces conditions hors du corps de l'animal - dans des liquides quelconques - à la seule condition que ceux-ci soient appropriés à sa nutrition".

Et - Pasteur insiste - le sang d'animaux sains ainsi cultivé ne donne jamais lieu au développement d'aucune culture.

"Le sang d'un animal en pleine santé ne renferme jamais d'organismes microscopiques ni leurs germes. Il est imputrescible au contact de l'air pur..."

Dans ses discussions ultérieures à l'Académie de Médecine - concernant la génération spontanée - il reviendra sur l'importance de ces prélèvements et cultures du sang. "Il y a présence de bactériodies chaque fois qu'il y a charbon. Le sang de l'animal la contient et elle seule. On peut le prélever et faire une culture à l'état pur - même dans des liquides artificiels et minéraux" - sans qu'elle perde sa virulence.

Il faut noter, à ce propos, que L. Coze et Feltz, dans leurs "Recherches expérimentales sur la présence des infusoires et l'état

du sang dans les maladies infectieuses" avaient, en 1872, relaté des faits analogues.

Un autre aspect des cultures du sang charbonneux sera intéressant à signaler - car il semble - comme on le verra plus loin - que de nombreux auteurs - dans les années à venir - n'envisageront guère ce phénomène. Lorsqu'on ensemente ou l'on inocule le sang d'un animal mort du charbon un certain temps après sa mort - on risque en effet de n'y plus cultiver de bactéries, mais - par contre - d'y retrouver d'autres germes qui sont des "vibrions de putréfaction". Une expérience de Signal montre par ailleurs que si, 15 heures après avoir sacrifié un animal en bonne santé, on prélève du sang veineux, ce dernier fourmille de bactéries de la putréfaction. Cette question semblera bien oubliée quand certains des premiers auteurs d'hémocultures s'appuieront sur des prélèvements chez le cadavre : bien des discussions surgiront à ce propos.

Le problème des souillures extérieures, en particulier des germes venus de l'atmosphère, est, il faut le noter, soulevé dès ces tout premiers cas. Pasteur rapporte à ce propos une tentative de prélèvement du sang in vivo et dans une veine de l'animal - ce qui en fait tout l'intérêt. En août 1877, dans une note, "Monsieur Toussaint fait connaître un procédé permettant de recueillir le sang charbonneux à l'abri de l'influence de l'air : on fait le vide dans un ballon d'une capacité de 2 cm³ - par évaporation sur la lampe d'un liquide dont on l'a rempli - et immédiatement après on effile à la lampe et l'on ferme le tube dont ce ballon est muni. Pour recueillir du sang charbonneux à l'aide de cet appareil, on introduit la pointe effilée dans une veine où le cours du sang est arrêté, puis, à travers

les parois de cette veine, on casse avec l'ongle la pointe du tube. Dès qu'il est ouvert, le sang est immédiatement aspiré...". Si cette méthode, ne serait-ce qu'en raison du frag-
-ment de verre qu'elle laisse dans le courant sanguin, ne paraît guère utilisable, du moins en pratique humaine, nous devons pourtant la signaler. Elle marque en effet un double sou-
ci, qui sera un des principaux problèmes de l'hé-
moculture en clinique - à savoir celui du pré-
lèvement - qui doit d'une part être aseptique :
et s'il s'agit de l'air, nous verrons que
d'autres questions se poseront à ce sujet -
et d'autre part en quantité suffisante. Nous
y reviendrons, en nous souvenant qu'un contem-
porain de Pasteur avait, là encore, joué le
rôle de précurseur.

Pour terminer cette question de l'hémocul-
ture chez l'animal charbonneux, plusieurs
remarques de Pasteur ont encore un grand in-
térêt. Les germes ne se développent pas aisé-
ment dans le sang, note-t-il. C'est un très
mauvais milieu de culture in vivo. Ils ne s'y
trouvent pas toujours en grande quantité et,
à l'occasion d'âpres discussions avec M. Colin
à l'Académie de Médecine, Pasteur insiste
sur la non-valeur d'une observation directe
négative - seule la culture ou l'inoculation
donnent une certitude. Enfin, c'est à la pé-
riode terminale de la maladie, comme l'avait
noté Davaine, que le germe peut être le plus
facilement retrouvé par prélèvement du sang.

Les expériences sur le sang d'animal char-
bonneux ont le mérite d'avoir montré d'em-
blée - parallèlement à l'intérêt de l'hémo-
culture - une partie des écueils sur lesquels
vont buter tous ceux qui s'intéresseront à
cette question. Mais, pour nous, l'applica-
tion de cette méthode à l'homme représente un
fait essentiel. L'hémoculture ne sera au début

que le moyen de confirmer ou d'infirmier un diagnostic, alors régulièrement fatal, à une période terminale de l'invasion septicémique, mais progressivement elle deviendra un moyen accessoire de diagnostic au cours de l'évolution d'une maladie - voire - prenant dès lors sa valeur actuelle, un moyen important et nécessaire là où l'examen clinique ne suffit plus.

Avant les recherches de Pasteur, certains auteurs s'étaient préoccupés de la recherche dans le sang d'agents pathogènes ou de modifications accompagnant une maladie.

Les travaux de Villemin sur la tuberculose sont bien connus. En 1868, il rapporte deux expériences : tout d'abord l'inoculation au lapin de sang d'un sujet mort de tuberculose, puis inoculation de sang humain prélevé par ventouse scarifiée à des tuberculeux : une partie des animaux contracte la maladie. On ne peut parler encore d'hémoculture, mais le sujet sera repris plus tard et nous pouvons noter au passage le procédé de la ventouse scarifiée, car nous le retrouverons plus loin.

En 1873, Orth (Archives de pathologie anatomique) observe du sang prélevé sur des malades atteintes de fièvre puerpérale, et y découvre des germes en chaînette. Ceci nous conduit aux travaux de Pasteur, qui confirment cette découverte.

Son rapport sur "la théorie des germes, son application à la médecine ou à la chirurgie" relate ses observations concernant les septicémies - et nous voyons immédiatement cette notion vague que Piorry avait essayé de définir prendre un sens plus précis. En effet, pour Pasteur, une septicémie est une affection due au développement de germes qui rompent

les barrières de l'organisme et sont véhiculées notamment par le sang. "Il existe", dit-il, "plusieurs sortes de septicémie ou d'infection putride. Il y a plusieurs vibrions septiques... Dans ce qui suit, j'ai particulièrement en vue le vibrion septique proprement dit". "Les mots infection purulente, septicémie, bactérihémie sont des expressions génériques. Les espèces en sont très nombreuses, suivant le "contagium vivum" qui les fait apparaître." Il prélève le sang d'animaux morts de septicémie. Mais bien vite, il s'aperçoit de la difficulté particulière à cultiver et même à conserver en vie ce germe, et en trouve la raison : "la stérilité d'un liquide de culture peut tenir à la présence de l'air, non à sa constitution propre... Dans ce dernier cas, aussitôt après avoir ensemencé le sang ou l'humeur que l'on veut éprouver - il faut faire le vide dans les tubes, les fermer à la lampe et les abandonner à une température convenable."

D'emblée, l'idée d'anaérobiose et partant d'hémoculture anaérobie est lancée. Et pourtant ces cultures ne demeurent pas toujours négatives : "Nos liquides ne restaient pas inféconds, mais nous obtenions le plus souvent un organisme microscopique n'offrant aucun rapport avec le vibrion septique et ayant la forme d'ailleurs très commune de chapelets de petits grains sphériques, sans aucune virulence d'aucune sorte". Donc au cours d'hémocultures un germe peut apparaître, qui non seulement n'est pas le responsable de la maladie - ce dernier ne pouvant se cultiver dans ces conditions - mais n'offre pas le moindre danger. Des souillures accidentelles sont donc toujours à craindre.

Il ne s'agit pas encore de l'homme. Avant d'en parler, une expérience qui est en quelque sorte une hémoculture à rebours vaut que l'on s'y arrête. En effet, l'injection par voie sanguine à un animal des organismes pathogènes qui ont été recueillis chez un autre

fait apparaître des manifestations morbides. "En injectant directement dans le sang, il est facile d'obtenir des abcès, soit par le microbe vivant, soit par le microbe mort (!), en faisant pénétrer les matières par la voie jugulaire".

Les premiers cas de maladies humaines où l'hémoculture a été employée sont ceux de septicémies puerpérales. Les premiers travaux de Pasteur, en effet, avaient donné lieu à de vives controverses sur la nature bactérienne ou non des maladies humaines - et quelques uns avaient cherché si on pouvait mettre en évidence - chez de telles malades - des germes analogues au vibrion septique. A la suite d'un communiqué de M.V. Feltz, concernant un germe trouvé pendant la vie dans le sang d'une femme atteinte de septicémie puerpérale, et sur l'invitation de M. Hervieux - à la Maternité - Pasteur prouve de façon indiscutable, et ce par hémoculture, que dans le sang de ces malades, prélevé de façon aussi aseptique que possible, on peut mettre en évidence en le cultivant un germe - toujours le même. Qui plus est, un organisme absolument identique est cultivé à partir des "lochies".

Le 11 mars 1879, Pasteur, à l'Académie de Médecine, rapporte les premiers cas d'hémoculture en clinique humaine. Les voici : "Une femme, accouchée depuis quelques jours, était en proie à une fièvre puerpérale très caractérisée ; la mort était certaine...

Le sang recueilli au doigt par une piqure d'épingle n'offrait que d'une manière douteuse l'organisme (retrouvé dans les lochies) mais, ensemencé dans un milieu de culture, le sang donna un développement sans mélange de microbes d'une autre nature - de ce même organisme formé de couples de grains ou de chapelets de grains...

Deux nouvelles cultures du sang eurent lieu encore pendant la vie, puis sept heures et trente deux heures après la mort. Ces dernières se firent par une gouttelette prise au pied, et par du sang de la veine fémorale. Le résultat fut le même."

La technique utilisée pour le prélèvement est "une piqûre à l'index de la main gauche qui avait été préalablement convenablement lavé et essuyé avec un linge flambé". Il semble que Pasteur ait obtenu des cultures pures. Le germe était-il bien responsable de la septicémie - quoique différent de celui des lochies - la concordance de ces résultats avec ceux d'autres observations permet de le penser.

D'autres cultures analogues sont faites, en effet, toujours chez des femmes atteintes de fièvre puerpérale. Le sang était parfois envoyé à Pasteur : "Monsieur Raynaud eut l'obligeance de m'envoyer du sang et des lochies d'une femme atteinte de fièvre puerpérale très grave...".

Une nouvelle série de prélèvements analogues - concernant la même affection - est effectuée à l'Hôpital Lariboisière, tantôt in vivo, tantôt après la mort.

"A l'Hôpital Lariboisière, nous avons recueilli, avec toutes les précautions de pureté indispensables, du sang d'une veine de la cuisse - 20 heures après la mort... La culture du sang montre l'organisme en petits grains... dans des cultures au contact de l'air ou dans le vide". Faisons remarquer, en passant, que Pasteur, à cette occasion, fait simultanément ses cultures en aérobiose et en anaérobiose. Pendant de nombreuses années ensuite, la culture anaérobie ne sera réalisée qu'en d'assez rares occasions.

Par contre, le mois suivant (Juin), quelques autres hémocultures resteront négatives, tant durant la vie qu'à l'autopsie. Quelques heures avant la mort d'une femme "très malade des suites d'un récent accouchement", on recueille du pus d'un abcès qu'elle porte au bras ; "on recueille également du sang par une piqûre faite à l'un des doigts de la main. Les deux liquides sontensemencés. Le flacon au sang est resté stérile".

La culture du sang d'un enfant mort peu après sa naissance est positive - avec présence de "vibron pyogénique" dans le milieu - alors que le sang de sa mère, cultivé, ne semble contenir aucun germe.

Un dernier cas est signalé à Cochin. Il s'agit toujours d'une femme, très malade. "Le 20 Juin on ensemence le sang prélevé au doigt par une piqûre d'épingle - la culture reste stérile. Le 15 juillet, c'est-à-dire 25 jours après, le sang du doigt est à nouveauensemencé. Le développement est toujours nul". A l'autopsie, "chose curieuse mais qui se comprend aisément, le sang d'une veine du bras recueilli $3/4$ d'heures après la mort, a donné une culture stérile".

De la fièvre puerpérale, Pasteur passe à d'autres maladies, avec le même but : y mettre en évidence la présence d'un germe, qui à partir d'un foyer initial essaime en d'autres régions de l'organisme, le sang étant responsable de cette transmission. Il faut donc comme précédemment faire des cultures simultanées des produits recueillis au niveau d'un foyer d'infection et du sang circulant.

"Au mois de mai 1879, une des personnes qui travaillent dans mon laboratoire eut de nom-

breux furoncles se produisant à courts intervalles... Le 10 Juin un nouveau furoncle apparaîtrait sur la cuisse droite de la même personne. On lave convenablement la partie enflammée au moyen d'un liquide alcoolique... Une piqûre faite sur la partie proéminente permet de recueillir un peu de lymphe mêlée de sang, qu'on ensemence en même temps que du sang pris au doigt de la main. Les jours suivants, le sang du doigt se montre parfaitement stérile", alors que la culture du sang recueilli en piquant le furoncle lui-même abonde en germes. Il en est exactement de même lorsqu'un furoncle apparaît au cou du malade, puis, quelques jours plus tard, à l'aisselle.

En résumé, le sang du doigt demeure toujours stérile, tandis que les cultures de prélèvements directs au niveau des foyers sont positives. Pasteur pensait que l'apparition successive de nouveaux furoncles en des points aussi éloignés de l'organisme s'expliquait par la migration des germes de place en place, cela par l'intermédiaire du sang. Il s'attendait donc à retrouver les germes en question par hémoculture.

Pasteur observe ensuite que les germes peuvent être détruits très rapidement par le sang, ce qui expliquerait leur rapide disparition même lorsque le prélèvement en contient. "D'une manière générale", observe Pasteur, "je dois faire observer que les parasites aérobies ont quelque peine à se cultiver dans le sang tant que les globules de celui-ci sont en bon état". Pasteur explique ce phénomène par "une sorte de lutte entre l'affinité pour l'oxygène des globules du sang et celle qui est propre au parasite".

La nature du milieu de culture n'est pas négligeable. Le germe de la fièvre puerpérale se cultivait bien sur "bouillon de muscles

de poule", mais ce milieu ne réussit pas pour tous les microbes. De même, l'"eau de levure" souvent employée ne donne aucun résultat dans le choléra des poules. Seul le "bouillon de poule" donne des cultures positives une fois de plus.

Bien entendu, si le germe est anaérobie, la stérilité des bouillons vient alors de la présence d'oxygène atmosphérique. Ainsi, l'ensemencement du sang terminé, faudra-t-il faire le vide dans les tubes - les fermer à la lampe et les abandonner à une température convenable".

Mais une dernière cause existe, et nous le verrons par la suite, elle représentera longtemps, avec le risque de souillures accidentelles, les deux écueils principaux qui rendront l'hémoculture un moyen de diagnostic très incertain. Il s'agit de la quantité de germes pouvant se trouver dans le prélèvement, et, par conséquent, du volume de ce dernier.

Si, dans les cas précédents, "la culture du sang de la circulation générale s'est toujours montrée stérile... il ne faudrait pas conclure d'une manière absolue que le petit parasite n'est pas, à un moment ou à un autre, charrié par le sang et transporté d'un furoncle où il est en voie de développement sur un autre point du corps...". "Je suis persuadé", dit Pasteur, "que si on pouvait mettre en culture non pas une gouttelette de sang de la circulation générale, mais quelques grammes ou davantage, on réussirait souvent à avoir des cultures fécondes".

Or quelle est la méthode utilisée : la piqure avec une aiguille de la pulpe de l'index. La quantité de sang recueillie, même après plusieurs expressions de la pulpe

ne peut dépasser quelques gouttes, ce qui est sans doute insuffisant. C'est pourquoi "il y aurait une grande utilité à rencontrer un malade qui voulût bien se prêter à de très nombreuses piqûres sur les divers points du corps, loin des furoncles formés, afin que l'on pût pratiquer une foule de cultures simultanées ou non du sang de la circulation générale".

Si le moyen trouvé par Pasteur offre quelques difficultés - et d'après le début de la phrase, il semble qu'aucun malade à l'époque n'ait manifesté un grand empressement à se faire piquer en de multiples endroits du corps - admirons sa clairvoyance. Nous n'en comprendrons que mieux le progrès fait par l'hémoculture le jour où une méthode - respectant toutes les conditions entrevues par Pasteur - permettra ces prélèvements importants.

En dernier lieu, mais nous ignorons si cela a été effectivement réalisé, Pasteur étend l'emploi de la culture du sang à d'autres maladies - la peste notamment. En 1879, à l'occasion d'une épidémie de peste, une commission se réunit - et demande conseil à Pasteur sur les moyens de diagnostic et de prévention de la maladie. Il affirme à nouveau : "De toutes les preuves qu'on puisse invoquer en faveur de la corrélation possible entre une affection déterminée et la présence d'un organisme microscopique - la plus décisive est la méthode de culture des organismes à l'état de pureté... Si j'étais appelé à étudier la peste là où elle règne, je m'occuperais tout d'abord de la culture du sang..."

Ainsi, le principe même de l'hémoculture, donc la notion de septicémie, ont été conçus

par Pasteur. Son esprit a prévu les développements que pourrait avoir cette technique, les difficultés qu'elle présentait, et la plupart des écueils sur lesquels elle pourrait buter. Après la méthode même de Pasteur, dont il a entrevu certains inconvénients, on peut se demander comment l'hémoculture n'a pas atteint d'emblée la place qu'elle a aujourd'hui dans les moyens de diagnostic mis à notre disposition. N'oublions pas, tout d'abord, la résistance acharnée rencontrée par ses théories sur les affections microbiennes. Même une fois cette lutte terminée, les imperfections de la technique limiteront son utilisation. Mais dès 1880 nous allons voir se multiplier les hémocultures, et ce dans les cas les plus variés de maladies humaines.

En France, les disciples de Pasteur, et ils sont de plus en plus nombreux, sont persuadés du rôle du sang dans le transport de germes d'un point à un autre du corps humain. Ils mettent inévitablement l'accent sur la nécessité de prélever ce sang et de le cultiver, si l'examen direct est insuffisant comme c'est bien souvent le cas. Parmi eux, retenons Doleris. Il rencontre Pasteur un jour au laboratoire de l'Hôtel-Dieu, et ce dernier, en pleine recherche sur la fièvre puerpérale, lui conseille d'entreprendre des travaux sur ce sujet.

Depuis Orth en 1873, on n'ignorait pas que des germes "en chaînette" pouvaient être observés dans le sang de ces malades.

Doleris n'ignorait pas le milieu septique par excellence que représentaient à l'époque Maternités et salles de travail. Ces germes, transportés par les mains des médecins et sages-femmes, étaient responsables de cette terrible maladie. "L'air, dit-il, est le grand véhicule

et le plus important à mon point de vue, qui charrie, transporte et conserve les germes de toute sorte, en particulier ceux qui, dans les salles de service de chirurgie et de maternité sont les générateurs des infections". Des voies génitales blessées et infectées, ils gagnent la circulation. Pour les mettre en évidence durant la vie, un double prélèvement est nécessaire : au niveau des voies génitales et dans le sang, avec hémoculture.

Les travaux sont faits en liaison suivie avec Pasteur, en partie dans son propre laboratoire. En collaboration avec Talamon, Doléris nous décrit la technique utilisée.

Quelques précautions sont nécessaires. Il faut "recueillir sur le malade ou l'animal en expérience les liquides pathologiques purs", c'est-à-dire sans adjonction de germes venus du dehors".

Même mode de prélèvement que celui précédemment décrit. Pourtant le "linge flambé" semble, heureusement, abandonné. Écoutons l'auteur :

"Voici comment on procède quand on veut prendre le sang d'un malade pendant la vie : c'est en général par une ponction ou une incision au bout du doigt qu'on l'obtient.

Le doigt ayant été préalablement lavé à l'alcool, avec une lancette ou une épingle trempée dans l'acide phénique, puis flambée... on fait une piqûre assez profonde au doigt, de façon à faire sourdre une grosse goutte de sang. On flambe alors rapidement un tube effilé, on en casse la pointe et on aspire une certaine quantité du sang ... on

referme alors la pointe à la lampe. On peut, au lieu de laver le doigt à l'alcool, répandre un peu de collodion sur les parties qu'on veut ponctionner... le sang qui s'écoule n'est plus ainsi en contact avec la peau et les germes extérieurs qui pourraient se rencontrer à sa surface."

Ce prélèvement terminé, il faudra "placer les liquides supposés contenir des organismes dans des conditions de développement qui permettent de constater la forme typique, l'état adulte des microbes, toujours à l'abri de l'invasion extérieure".

Les milieux sont assez variés. Pasteur emploie l'urine, le bouillon à l'extract de viande de Liebig, le bouillon de poule. Certains auteurs allemands ajoutent l'humeur aqueuse et le sérum aux précédents.

Pour prévenir au maximum les souillures, le milieu est placé dans les ballons à culture spéciaux de Pasteur : col effilé, bouchon en verre, rodé, prolongé par un tube muni d'ouate stérile. Une épreuve de séjour à l'étuve durant cinq jours permet de s'assurer de la stérilité. On fait tomber la goutte de sang dans le liquide, en soufflant dans l'autre extrémité, garnie de ouate, du tube à prélèvement. Le ballon est porté à l'étuve (36°) et s'il reste limpide après 24 à 36 h, c'est qu'aucun organisme ne s'y est développé "soit parce que le liquideensemencé ne contenait pas de germe, soit que le microbe en expérience n'a pas trouvé dans le ballon un milieu approprié à son développement". Mais, ajoute Doleris, ce n'est pas une, mais vingt cultures qu'il faut faire "pour être assuré qu'aucune cause d'erreur n'est capable à elle seule de fausser les résultats obtenus non sans peine."

Ces résultats sont souvent négatifs, quand tout, cliniquement, fait penser à une septicémie. En effet, "la septicémie vraie ne se caractérise par l'apparition dans le sang d'organismes vivants qu'aux dernières périodes de la maladie, parfois même après la mort seulement".

De plus, et l'on y reviendra, la piqûre du doigt ne fournit au maximum que deux ou trois gouttes de sang, rappelons-nous les suggestions de Pasteur. Cela n'échappe pas à Doleris :

Il...m'est arrivé de n'obtenir d'organismes que deux fois sur cinq... On comprendra comment cette cause d'erreur basée sur un seul résultat qui serait négatif est explicable quand on songe qu'on se contente... d'obtenir une gouttelette insignifiante au moyen d'une piqûre d'épingle."

En lisant les observations de malades de Doleris, on est frappé par le fait que l'examen direct du sang, toujours effectué, est à plusieurs reprises positif. La pullulation des streptocoques dans ce sang est donc comparable à celle de la bactériémie chez l'animal charbonneux. La culture n'a alors qu'un mérite de moyen de contrôle.

Le premier cas rapporté est celui d'une jeune femme de 24 ans, décédée à la suite d'une septicémie puerpérale à marche rapide. A l'autopsie, il prélève du sang dans la veine crurale et du "liquide des méninges", "Une goutte de chaque est introduite dans des ballons contenant du bouillon de poule. L'ensemencement est pratiqué par M. Chamberland au laboratoire de M. Pasteur. Les deux cultures sont fécondes."

Un deuxième cas nous intéresse plus. En effet, le sang est prélevé cette fois chez une malade vivante.

"Dans l'après-midi du 26 mars, craignant de voir succomber la malade très rapidement, je pris du sang : 1° au poignet droit - 2° à l'orteil médian du pied droit - 3° à l'index de la main gauche". Ensemencé sur divers milieux, sept ballons sur 11 contiennent le germe.

En même temps, des recherches semblables sont faites au cours de maladies différentes. On trouve par exemple un organisme "qui provenait du sang d'un homme mort en trois jours d'une méningite cérébrospinale avec arthrites, pleurésie, etc..."

L'intérêt de l'hémoculture dans de telles conditions pourrait sembler un peu trop restreint, c'est pourquoi il faut remarquer particulièrement deux des dernières observations de Doleris. Précédemment, il s'agissait toujours d'un sujet mort ou à l'agonie, et son sang pullulait de germes à l'examen direct. Or cette fois, il en va différemment : les deux malades guérissent plus tard et l'examen direct du sang est négatif. Pourtant, note Doleris :

"Le 19 mars, je mets en culture dans trois ballons trois gouttes de sang pris pur à des endroits différents sur une femme du service de M. Empis à l'Hôtel-Dieu. Le sang cultivé dans deux ballons donne des micrococcus en petits points isolés".

Ailleurs, c'est un homme de quarante ans, atteint d'érésypèle :

"J'avais cultivé le sang de cet homme au moment de la période d'état de sa maladie et le résultat avait été nul". A l'occasion d'une poussée thermique avec frissons "j'ai puisé du sang au niveau de l'épaule du malade et la culture m'a donné cette fois l'organisme

corpusculeux du pus en abondance".

Que nous apprend le travail de Doleris ? Tout d'abord, que l'hémoculture est une technique délicate, demandant beaucoup de soins. On a vu les préoccupations de l'auteur concernant la souillure de ces cultures par germes extérieurs ou germes de la peau ; concernant également la quantité de sang : il met là en pratique les conseils du Pasteur. Quant à son intérêt historique, il est indiscutable : c'est la première fois, ou une des toutes premières fois, que l'hémoculture est employée de façon quasi systématique en milieu hospitalier. Remarquons que le sang de ses malades fourmille bien souvent de germes et que le prélèvement est fait après la mort ou à l'agonie, de toute façon à un stade où la maladie est cliniquement évidente. Certes, mais nous sommes en 1880, la théorie des germes de Pasteur est loin d'avoir l'approbation commune, et l'opinion des ouvrages de l'époque est, nous le verrons, d'une prudence extrême, pour ne pas dire d'une méfiance certaine à son égard.

Un autre point doit être noté : Doleris insiste sur le fait que l'hémoculture ne peut être positive à tout moment de la maladie, qu'une culture négative peut se voir en pleine évolution, et il faut alors attendre une poussée thermique ou des frissons pour que le germe soit cultivé, nous ne l'ignorons pas aujourd'hui !

Avec l'appui de ces dernières découvertes, que devient pendant ces dix ou quinze années, la signification du mot septicémie ? Depuis, Piorry qui voyait en elle "toute altération du sang par des matières septiques ou putrides, quelles que soient leur provenance et leur porte d'entrée" une certaine évolution s'est faite.

En 1873, Lacassagne distingue, suivant l'évolution clinique : des "septicémies aiguës" (fièvres septiques, miasmatiques, traumatiques, septicémiques et gangréneuses), caractérisées par une fièvre élevée et des symptômes ataxo-dynamiques prédominants.

et des "intoxications septicémiques chroniques" dont les symptômes sont beaucoup moins accusés et surtout l'évolution plus lente. Si, notamment pour cette dernière catégorie, le mot septicémie semble encore couvrir des phénomènes morbides qui sont hors de ce cadre maintenant, une remarque de Lacassagne montre qu'il est au courant des découvertes de ses contemporains, et que leur opinion est au moins en partie, sienne. Il ajoute en effet :

"Pendant la vie et après la mort, l'examen microscopique du sang, des humeurs, révèle la présence de bactéries dont le nombre et les dimensions sont en rapport avec l'acuité du processus". Donc l'existence et le nombre des germes dans le sang a une valeur diagnostique et pronostique.

Le Dictionnaire de Médecine de Littré et Robin, en 1878, est beaucoup moins affirmatif, puisqu'il désigne la septicémie comme une "altération générale du sang, tant spontanée qu'à la suite des plaies".

L'édition de 1881 du Dictionnaire de Dechambre, au contraire, montre l'influence des idées nouvelles en matière de pathologie infectieuse. Si étymologiquement, dit-il, le mot septicémie vient du grec "septikos", qui produit de la putréfaction, son sens s'est progressivement modifié. On fera de moins en moins rentrer dans ce cadre les infections putrides, qui ne représentent qu'une toxémie liée à l'existence d'un foyer de décomposition où

se putréfient lentement des matières organisées. La vraie septicémie est une infection purulente, résultant de "l'introduction et multiplication dans l'économie de l'organisme microscopique décrit et étudié par Pasteur".

Une distinction doit être faite entre la septicémie au sens étroit, Pastorien si on veut, du mot (Intoxication spéciale résultant de la multiplication dans l'économie et de l'action du vibrion septique"), et au sens large : altération du sang par une substance vénéneuse toxique ou parasitaire. D'autre part un tableau cliniquement bien différent est réalisé par la pyohémie, à marche plus lente, secondaire à des plaies suppurées, l'agent responsable n'en est plus le vibrion, mais un des germes générateurs du pus. Si les 2 formes coexistent, on se trouve devant une "septicopyohémie".

L'auteur, il faut le remarquer, ne conçoit pas l'intérêt pratique de l'hémoculture dans le diagnostic de ces affections. Comme Pasteur lui-même, il insiste sur le fait que "l'absence dans le sang pris sur le malade du vibrion septique de Pasteur ne prouverait pas qu'il s'agit d'une affection différente de la septicémie car une gouttelette de sang peut ne pas renfermer le parasite". Ce manque de certitude de la méthode n'encourage guère, pense-t-il, à l'employer comme moyen de diagnostic : "Les cultures du vibrion pris sur le vivant et la reproduction de la septicémie chez l'animal ne sont pas des procédés pratiques, et la clinique exige des méthodes moins longues et plus faciles... La recherche du vibrion septique ou de l'organisme générateur de pus n'offre pas un point d'appui pour le diagnostic clinique".

L'HEMOCULTURE
AU COURS DES 20 DERNIERES ANNEES DU XIXe SIECLE
1881 - 1891
--

Dès 1880, En France comme à l'étranger, en Allemagne surtout, le nombre de médecins pratiquant régulièrement ou occasionnellement l'hémoculture va en croissant. Avec Doleris et Pasteur, elle avait permis une élégante vérification de la théorie des germes, au cours de quelques affections à caractère septicémique, fièvre puerpérale surtout. Non seulement le nombre de ses adeptes augmente, mais la variété des cas et des maladies à l'occasion desquels elle est pratiquée, s'étend aussi. Pratiquement, dès qu'une affection microbienne nouvelle est connue, on recherche le germe dans le sang, pour le confronter avec celui trouvé en un autre point de l'économie. Ce qui devient tout particulièrement intéressant, c'est que l'hémoculture perd progressivement son rôle de vérification secondaire - et bien aléatoire - d'un diagnostic établi autrement, son rôle de parent pauvre, pourrait-on dire. Elle va, bien au contraire, surtout chez quelques auteurs que nous verrons plus loin, devenir un moyen de diagnostic non seulement secondaire (Hilfsmittel), mais parfois essentiel. Parallèlement, on s'inquiètera des défauts nombreux que présente cette méthode au début - et les critiques affluant - les causes d'erreur vont en diminuant.

Cette évolution d'une technique médicale ne suit pas seulement la progression des connaissances théoriques concernant la pathologie humaine. Elle est - comme toujours en pareil cas - dépendante des moyens matériels mis en oeuvre, et nous allons voir au cours des pages qui suivent l'importance de cet aspect de la question pour l'hémoculture.

Il serait bien difficile de s'étendre longuement sur chaque nom et sur chaque cas ayant fait l'objet d'une hémoculture - même au cours de ses débuts. Par contre, il est utile de poser quelques jalons permettant de mieux suivre l'évolution de la méthode à un moment donné. C'est pourquoi nous nous arrêterons un peu plus sur certains rapports et certaines méthodes plus particulièrement représentatifs.

Le premier nom que nous trouvons est celui d'Ogston, en 1880, contemporain par conséquent de Doleris. Il signale dans son article "Ueber Abcesse" quelques cas de septicémie où un germe a été retrouvé - par piqûre du doigt - dans le sang du sujet vivant.

Les recherches de Marigliano, vers 1882, sont signalées par quelques auteurs. Elles concernent surtout la fièvre typhoïde, et il ne semble pas que ses résultats en matière d'hémoculture soient bien probants. Il a pourtant le mérite d'être l'un des premiers à cultiver dans le sang d'un typhique un germe particulier, alors que les quelques essais de ses prédécesseurs n'avaient rien donné d'autre que des pyogènes banaux. Il n'hésite pas à cultiver du sang obtenu par ponction splénique in vivo et obtiendrait ainsi une culture pure d'Eberth.

L'année suivante, quelques observations de Talamon, dans un rapport à la Société Anatomique, relatent des hémocultures au cours des pneumonies graves. Au cours d'une pneumonie mortelle, "examen du sang une heure avant la mort - résultat positif de l'examen direct et de la culture : diplocoque. Le même organisme est trouvé une heure après la mort dans le sang de la veine basilique..." Par ailleurs, écrit-il, "Chez un homme atteint de pleuropneumonie avec endocardite, le sang du doigt a fourni peu d'heures avant la mort des diplocoques analogues à ceux du cas précédent".

Jordan, la même année, cultive (14 jours avant la mort) des streptocoques dans le sang d'un septicémique (blessure de l'avant-bras).

Rosembach, 1884, est souvent noté, dans les ouvrages de l'époque, et en général considéré comme un des tout premiers à avoir obtenu une culture positive du sang en pleine évolution de la maladie, et non plus durant l'agonie ou post mortem. Ses travaux concernent surtout les "affections traumatiques" : blessures infectées, etc... Au cours d'une telle septicémie, il observe par culture d'un peu de sang prélevé sept jours avant la mort, du streptocoque et du staphylocoque. Il en est de même pour Garré, un an après, dans un cas d'ostéomyélite. Le sang du malade contient le staphylocoque doré.

Dès cette époque, se pose la question de la "fièvre hectique" des tuberculeux et très tôt des examens du sang sont pratiqués, dans le but d'identifier un germe responsable de cette fièvre. Weichselbaum et Meisels, en 1884, observent le B K dans des frottis du sang de sujets morts de miliaire. Lustig

fait la même découverte dans le sang prélevé au doigt d'une jeune fille atteinte de miliaire, ainsi que Sticker, dont la malade guérit par la suite.

Le nombre des rapports concernant des hémocultures va croître rapidement après 1885. Dans le courant de 1886, on peut noter :

Doyen, en France, qui à la suite de nombreuses recherches sur les septicémies diverses, définit la septicémie comme une infection "durant laquelle des microbes peuvent toujours être mis en évidence dans le sang.

Netter emploie une méthode que nous retrouverons un peu plus tard. A l'occasion d'une pneumonie gauche avec épanchement péricardique "l'examen du sang a été fait trois jours avant la mort. Il a été retiré à l'aide d'une ventouse scarifiée...". Recherches analogues au cours d'ostéomyélites (staphylocoques).

La fièvre typhoïde retient l'attention d'auteurs comme Neuhaus qui examine et cultive simultanément le sang des taches rosées de l'abdomen et le sang veineux de l'avant-bras (notons-le au passage), sans grand résultat d'ailleurs pour le sang veineux - et, l'année suivante Meisels qui écrit un article "sur la présence de bacilles typhiques dans le sang et sa signification pour le diagnostic".

Sur 35 cas de fièvre typhoïde, Wiltshour, la même année, à St-Petersbourg, n'obtient qu'une seule fois par hémoculture le bacille d'Eberth. Ce fait s'explique, pour lui, d'une part en raison de l'insuffisance des

prélèvements, d'autre part, à cause du très bref passage que fait le bacille typhique dans le sang.

Pour en finir avec l'année 1886, citons encore les observations de Dunnin (sang splénique d'un typhique), de Tilanus (septicémies chirurgicales) et de Saccoud (sang d'un pneumonique).

La septicémie de la fièvre puerpérale retiendra l'attention de Brieger et Czerniewski en 1888; Brieger, remarquons-le, prélève le sang à la veine du pied de 6 malades, l'ensemence dans des conditions aussi variées que possible : en modifiant les milieux de culture, la température, etc... et injecte une partie de ce sang à l'animal. Malgré toutes ces précautions, les six résultats sont négatifs.

Czierniewsky emploie la piqûre ou l'écorchure de la peau, mais aussi l'ouverture de la veine médiane. Une trentaine de malades ont leur sang prélevé. Sur 300 ballons de culture ainsi ensemencés, seuls 5 correspondant aux formes particulièrement graves, contiendront des germes (streptocoques).

Karlinsky se livrera à des recherches analogues.

La méthode de prélèvement de Saüger (1889) est à mettre à part pour son originalité, étant donné la date. Il prélève le sang dans la veine du bras des sujets avec une "seringue de Hausmann". Quatre malades subissent ce prélèvement et il obtient à quatre reprises du staphylocoque.

Okinchitz, à St-Petersbourg, étudie deux cas d'infection post-traumatique, l'un à terminaison fatale, l'autre non. Dans les deux

cas, la culture du sang contient un streptocoque, alors que l'examen direct de la goutte de sang ne montrait rien dans le 2ème prélèvement.

Widal, toujours en 1889, cite surtout des hémocultures par prélèvement du sang du coeur après la mort. Un seul examen durant la vie a eu lieu : la culture n'a montré aucun germe. Lui aussi s'est attaqué au problème de la fièvre hectique des tuberculeux; et a cultivé le sang de ces malades : à chaque fois, il note l'absence totale de germes dans la culture.

Au total, durant ces dix années, les comptes rendus d'hémocultures sont très sporadiques, souvent décevants. Bien souvent il ne s'agit pas de recherches systématiques : lorsqu'un tel travail a lieu, la majeure partie des résultats est négative. Pourtant, il faut souligner la variété des affections dans le cours desquelles, avec des chances fort inégales, l'hémoculture est tentée. Nous allons nous arrêter plus longuement sur un auteur viennois, Eiselsberg, dont les recherches touchant à la présence de germes dans le sang ont lieu entre 1886 et 1890. Ceci aura l'intérêt de permettre de faire le point, en quelque sorte, sur les méthodes employées à l'époque.

Pour Eiselsberg, notons-le tout de suite, l'hémoculture représente un moyen de diagnostic réel, en cours d'évolution de la maladie, permettant même d'orienter la thérapeutique. Son intérêt pratique en clinique, pour la première fois peut-être, vient au premier plan. Les mêmes germes, constate-t-il, sont responsables des infections locales dans les tissus et des "fièvres traumatiques", qui surviennent lorsque ces germes dépassent le foyer cutané et sont envoyés

dans le sang. De là, ils peuvent atteindre d'autres organes et y former des abcès métastatiques (ancienne notion de pyémie). Or, remarque Eiselsberg, les symptômes locaux peuvent être très discrets, du moins au début, de même que le foyer d'inoculation. Les symptômes généraux sont communs à de nombreuses maladies très différentes. Quel moyen de diagnostic reste-t-il dans ce cas : l'examen bactériologique du sang. Mais il est exceptionnel de trouver un germe à l'examen microscopique direct du sang : la culture de ce dernier facilite beaucoup la recherche.

Avant de rapporter quelques unes des observations d'Eiselsberg, jetons un coup d'oeil sur sa méthode.

On nettoiera à fond le doigt, ou "comme on recommande maintenant de le faire", le lobe de l'oreille du malade, avec, successivement, sublimé, alcool et éther. On pourra alors piquer avec une aiguille à coudre flambée à la lampe à alcool et refroidie, enlever avec un fil de platine la première goutte de sang, et recueillir la goutte suivante sur une aiguille de platine stérilisée. Avec ce sang, on ensemece par piquûres des éprouvettes contenant gélose et agar-agar, que l'on conserve à la température du corps. On surveillera les cultures et on examinera des prélèvements dès que les germes commencent à pousser.

Quels résultats obtient Eiselsberg :
4 observations nous le diront.

Ier Cas - Une femme de 38 ans, après traumatisme violent sur la hanche droite, est hospitalisée dans un état très fébrile (40°). La région trochantérienne droite est un peu enflée et sensible : un hématome s'y développe progressivement.

La fièvre persistant sous quinine, un prélèvement de sang à la pulpe du doigt de la patiente permet une culture sur gélose. Deux jours plus tard, de petites colonies blanches de streptocoques se développent dans deux tubes. Durant ce temps, un abcès s'est formé à la hanche, il est incisé, mais la malade meurt le lendemain. Le pus de l'abcès contenait le même germe que le sang. Si, dit Eiselsberg, l'hémoculture avait été faite plus tôt, on aurait plus vite incisé l'abcès et la malade serait encore en vie.

IIème Cas - Une femme de 51 ans est opérée
- sur sa demande - d'un volumineux chondrome scapulaire. La plaie est fermée sur drains imbibés d'iodoforme. Le lendemain, délire, pouls rapide, mais température peu élevée. Ni réaction locale, ni écoulement. Le 5ème jour après l'intervention, prélèvement du sang au bout du doigt : culture sur tubes d'agar et de gélose, qui contiennent 48 h après des colonies de staphylocoque doré. Mort le lendemain. L'autopsie montre une infiltration purulente étendue, gagnant le plexus brachial, la coupole pleurale, avec thrombose des veines voisines.

IIIème Cas - Chez une jeune fille de 15 ans, à la suite d'une écorchure de la cheville gauche (chaussure trop serrée), apparaissent un gonflement local, douloureux, et rapidement une fièvre à 40°. Le lendemain, mêmes phénomènes au niveau du genou gauche, puis coude droit. On pose le diagnostic de rhumatisme articulaire aigu et 6 g de salicylate de Na entraînent une amélioration passagère. Quelques jours après, sous salicylate, fièvre et arthralgies réapparaissent. Une hémoculture est positive, à pyogènes.

De nouvelles localisations apparaissent et les incisions faites ramènent du pus à staphylocoque doré. Une deuxième hémoculture est encore positive. Décès quelques jours après.

IVème Cas - Un jeune homme de 26 ans, cheminot, est heurté par une locomotive et hospitalisé pour violentes lombalgies gauches. Après 5 semaines d'hospitalisation, il sort avec une légère douleur lombaire à la marche, qui s'aggrave dès sa sortie. Réhospitalisé, la région apparaît comme très sensible, et une légère fièvre se déclare. Impression de fluctuation locale, comblement de la fosse lombaire droite. Un prélèvement du sang par la méthode habituelle ne donne rien à l'examen direct, mais la culture, 24 heures plus tard, contient du staphylocoque blanc. La loge rénale est incisée : énorme quantité de pus, qui est drainé. Guérison rapide. Le pus contenait le même germe.

De nombreuses hémocultures sont faites de la même façon au cours de phlegmons - ostéomyélites - péritonites septiques. Elles ont donné des résultats négatifs dans la moitié des cas alors que la "septicémie" était mise en évidence à l'autopsie. Eiselsberg explique cela en disant que dans ces derniers cas il y avait émission, à partir du foyer, de toxines chimiques en abondance, alors que peu de germes étaient répandus dans la circulation.

Une hémoculture immédiatement avant la mort (comme c'était le fait pour la quasi-totalité des cas d'auteurs précédents), a toutes les chances, au contraire, d'être positive. La densité en germes, observe Eiselsberg, augmente chez le cadavre, plus on s'éloigne du moment du décès.

On ne peut conclure enfin d'une hémoculture négative à l'absence de germes dans le sang ; la proportion de résultats positifs augmente avec l'importance de la fièvre : il existe donc une relation directe entre cette fièvre et le passage des germes dans le sang.

Utilisant des méthodes analogues, et vers la même époque (1890-1891), on peut citer les noms de Brunner, de Belfanti, qui publie plusieurs cas d'ensemencements du sang au cours de pneumonies et obtient durant la vie des malades, à cinq reprises, du pneumocoque, ces cinq cas, incidemment, s'étant terminés par la mort du sujet. En 1891, Achalme isole, du sang prélevé à l'autopsie d'un "rhumatisant", un bacille anaérobie. Enfin, à la même date, un certain nombre d'auteurs signalent les résultats obtenus en cultivant le sang du cadavre, d'autres au contraire, tels Wurtz et Chvostek contestent la valeur de ces cultures, objectant l'envahissement agonique et post mortem du sang par divers germes de l'organisme. Nous aurons l'occasion de revenir plusieurs fois sur cette question.

En jetant maintenant un coup d'oeil en arrière, deux problèmes, il faut le remarquer, préoccupent tous ceux qui ont employé l'hémoculture, de Pasteur à Eiselsberg. Le premier concerne la quantité de sang à prélever. Le second est le risque continuuel de souillure qui demeure important en dépit des précautions prises. La méthode employée, à savoir la piqure de la pulpe du doigt avec une aiguille, et répartition de la quantité minime de sang dans plusieurs ballons, est certes responsable de cette première difficulté. Mais n'est-elle pas aussi cause d'erreurs par souillure des

cultures, lorsqu'il s'agit de pyogènes banaux, staphylocoques en particulier. Cette question va se poser à tous dans les années à venir. Nous verrons l'opinion de Sittmann, de Lenhartz, d'Ettlinger et de nombreux autres dans les années 1890 à 1895. Aucun travail systématique ne semble avoir été fait jusque là à ce sujet. C'est pourquoi il est utile de relater dès maintenant les expériences faites par Hulot durant cette période, et citées par lui dans sa thèse sur les "infections d'origine cutanée chez les enfants".

La surface de la peau, fait observer Hulot, est en effet couverte à l'état normal d'une grande quantité de microorganismes saprophytes ou pathogènes. Ces microbes sont très difficiles à faire disparaître, car enfoncés dans les sillons et l'embouchure des glandes sudoripares et des poils, ils résistent aux lavages les mieux faits.

Dans le service du Professeur Hayem, à l'hôpital St Antoine, Hulot fait l'expérience suivante : "ensemencement des doigts de tous les malades d'une salle sans les laver, puis une seconde fois après des lavages successifs à l'eau distillée, au sublimé, à l'alcool et à l'éther". En dépit de ces précautions, "une seule de ces secondes cultures est demeurée stérile. Toutes les autres ont donné - à la différence de nombre près, les mêmes colonies que les premières".

Quelle conclusion en tire Hulot ? Elle s'impose d'elle-même : "ceci montre en passant combien souvent est illusoire l'asepsie de la peau quand on veut prélever par piqure une certaine quantité de sang pour l'ensemencer".

Si les germes rencontrés sur la peau étaient toujours des saprophytes banaux, les résultats seraient sans doute moins compromis, car on les distinguerait plus facilement des germes pathogènes rencontrés dans le sang. Mais il n'en va pas ainsi.

En effet, "la peau oppose à l'infection une barrière efficace, mais devient en quelque sorte un réservoir de germes. Les microbes pyogènes peuvent exister dans toutes les couches du tégument externe sans donner lieu à aucun phénomène. Ils vivent à l'état normal sur la peau... et résistent aux lavages les plus soigneux. Sans cesse renouvelés par le contact des objets dont nous nous servons, il est impossible d'obtenir leur disparition complète".

Les microorganismes de ce type les plus fréquemment observés et les plus souvent responsables d'infections à point de départ cutané sont les staphylocoques doré et surtout blanc. Or ces deux germes peuvent être responsables de septicémie. Une confusion est d'autant plus fâcheuse que - considérant ces germes comme hôtes habituels de la peau - on risque de les méconnaître au cours de la septicémie. Inversement, on peut les rendre responsables à tort de l'affection. Un seul remède : un moyen de prélèvement limitant au minimum le risque de souillure, donc tout contact avec la peau, si bien désinfectée soit-elle. Ce moyen existe : c'est la ponction veineuse.

- II -

HEMOCULTURE ET PONCTION VEINEUSE

--

La ponction veineuse chez l'individu vivant, animal puis homme, était connue de longue date, puisque dès le XVIIème siècle on l'employait pour injecter différentes substances médicamenteuses. Le premier à avoir suggéré, au moins théoriquement, l'application de cette méthode à l'homme serait Johann Daniel Majoris qui, en 1667, propose l'utilisation d'un trocart dans ce but. Il signale en passant que le trocart peut rencontrer au niveau des pores de la peau des "miasmes" pathogènes. Ettmüller en 1680 conseille d'inciser d'abord peau et veine à la lancette, après pose d'un garrot (bras ou cuisse) et d'introduire ensuite une canule ou siphon d'argent "étroit du bout et un peu recourbé". Quelque temps après, il emploie une seringue d'argent qui lui permet de ponctionner directement le vaisseau. Mais ce n'est qu'en 1853 que Pravaz présentera la seringue qui porte son nom.

Puisque la voie intraveineuse était bien connue, les moyens d'injection auraient pu aussi bien servir au prélèvement du sang: il faut qu'il y ait eu un inconvénient à l'emploi de telles seringues pour l'hémoculture. Cet inconvénient existe réellement et il sembla tout d'abord irrémédiable. Une bonne seringue doit naturellement

être étanche : les seringues de Pravaz ordinaires l'étaient, grâce à leur piston en cuir s'introduisant très exactement dans le corps de la seringue. Mais pour garantir la qualité d'un prélèvement bactériologique, une stérilisation rigoureuse, nul ne l'ignorait plus à l'époque de Pasteur - était indispensable. Cette stérilisation se faisait dans de bonnes conditions en chaleur humide, à 115°. Or aucun piston en cuir ne supporte pareil traitement ! Remarquons en passant à quel point une méthode scientifique peut être tributaire de détails techniques en apparence secondaires. Le problème était là : on ne peut faire d'hémoculture valable sans un prélèvement aseptique - (et le mieux est d'aller directement chercher le sang dans un vaisseau) - mais il n'existe pas de seringue supportant la stérilisation nécessaire. La question fut tranchée dès 1886 par une invention du Professeur Straus, réalisée par la maison Collin.

On pourrait se demander - évidemment - pourquoi n'avait-on pas fabriqué des seringues à piston de verre - puisque la majeure partie du corps de la seringue était en verre. Ceci s'explique : aucun verrier ne pouvait obtenir un piston exactement ajusté à une seringue, coulissant à frottement doux, par simple moulage de ce dernier. L'invention du Pr Straus venait donc à point. La première mention de cette seringue apparaît en 1886. Straus la présente en ces termes à la Société de Biologie :

"Tous ceux qui s'occupent de recherches bactériologiques savent combien il est important de se servir de seringues susceptibles d'être purgées de tout germe par le séjour dans l'eau bouillante ou dans l'eau à 115°, ou par la chaleur sèche... Monsieur

Collin a cherché à rendre facile la stérilisation de la seringue de Pravaz ordinaire, et il y est arrivé d'une façon aussi simple qu'ingénieuse en substituant au piston en cuir de cette seringue un piston en moelle de sureau... Il consiste simplement en une rondelle de moelle de sureau que l'on taille à la dimension voulue - en forme de cylindre - et que l'on peut achever de façonner avec les doigts... Ce piston ne présente pas l'inconvénient du piston en cuir, qui se racornit par la chaleur. S'il vient pour un motif quelconque à se détériorer, chacun le remplacera avec la plus grande facilité". Et conclut Straus : désormais "la seringue de Pravaz pourra donc être stérilisée soit par l'eau bouillante, soit par la chaleur sèche : c'est là un avantage sur l'importance duquel il n'est pas besoin d'insister".

Un autre avantage de cette seringue, c'est son étanchéité parfaite. Le piston en cuir devait être graissé - pour éviter le durcissement ou le racornissement du cuir, "ce qui est une condition permanente de souillure". Au contraire "pendant le séjour à l'autoclave, la moelle gonfle à l'humidité, et l'étanchéité n'en est que plus parfaite". Pratiquement, cette rondelle est embrochée sur un axe métallique et maintenue entre deux rondelles, de métal également. On peut reserrer ces dernières en tournant un bouton à l'autre extrémité, et le frottement du piston contre le verre peut ainsi être gradué à volonté. En 1891, Straus modifie le modèle, notamment en y ajoutant des joints de sécurité, entre monture métallique et corps en verre, eux aussi en moelle de sureau.

Cette seringue n'est pas le seul type utilisé dès cette date. En Allemagne, notamment, comme le signale Sittmann, on emploie avec

prédilection la seringue de Luer (1886) dont le corps est entièrement en verre et le piston en amiante. Malassez passe en revue les différents modèles utilisés avant 1891. Les premiers consistaient, quant au piston, en rondelles de peau de chamois serrées par deux écrous. L'amiante, employée les premiers temps à l'état pur, se désagrégeait trop facilement (le piston de Luer est par contre de bonne qualité). Il recommande, outre la moelle de sureau et de ferdinanda, l'emploi de "matière à joints pour machine à vapeur..."

Nous ne reviendrons pas sur l'importance de ce nouveau mode de prélèvement. Grâce à lui, de grandes quantités de sang peuvent être obtenues aseptiquement et en une seule fois. Pourtant, et on s'en apercevra en reprenant l'histoire de l'hémoculture, tous ne vont pas l'employer immédiatement. Mais peu à peu la méthode de piqûre cutanée lui cèdera la place.

- III -

L'HEMOCULTURE PENDANT LES DERNIERES ANNEES
DU XIXème SIECLE

-:-

La recherche des germes dans le sang est devenue chose courante, sinon toujours facile, et un nombre croissant de pathologistes l'utilise de façon continue. Tous les rapports des années qui vont suivre marquent cette évolution : chaque auteur, après avoir décrit sa technique, énumère - maladie par maladie - les résultats obtenus. Ainsi s'édifie progressivement une nouvelle conception de la maladie. On va même un peu plus loin : puisque la migration des germes par voie sanguine semble fréquente, toute atteinte organique sévère, même localisée, toute fièvre sans étiologie bien déterminée est l'occasion - pour certains - d'un prélèvement sanguin suivi de culture - bien souvent négative.

En 1893, paraît la thèse de Charles Ettlinger : "Etude sur le passage des microbes pathogènes dans le sang". Il recherche les germes dans un grand nombre d'affections, car, dit-il, c'est l'arrivée des microbes dans le sang qui marque la transformation de l'infection locale en infection générale. Il connaît les inconvénients et causes d'erreurs possibles de la méthode : "La technique de la prise de sang mérite de nous arrêter un peu, car de la perfection de cette tech-

nique dépend l'exactitude des résultats que nous pouvons obtenir... Une difficulté provient de ce que nous pouvons, avec la prise de sang, recueillir une impureté. La pratique d'une asepsie rigoureuse ne parvient pas toujours à l'éviter."

Si le procédé de piqûre du doigt est encore le plus habituel, Ettlinger met en garde son lecteur. "L'objection principale à faire à ce procédé", en effet, "est l'impossibilité d'obtenir une désinfection parfaite de la peau. Pour parer à cet inconvénient, certains laissent un pansement au sublimé en contact pendant 24 heures ; d'autres font la piqûre à travers une mince couche de collodion..."

Mais, heureusement, d'autres moyens sont à sa disposition. Et le suivant ne manque pas d'originalité : "le procédé de la ventouse scarifiée permet de recueillir une notable quantité de sang. Aussi est-il recommandé par Weichselbaum, pour la recherche de bacilles tuberculeux". Nous le retrouverons quelques années plus tard.

Pour finir, Ettlinger préfère la ponction veineuse directe. Il a le choix entre la seringue de Straus et Collin, celle de Roux assez voisine, et la seringue de d'Arsonval à piston d'amiante. Le modèle choisi est stérilisé à l'autoclave à 115°, muni au préalable de son aiguille garnie d'un mandrin. La peau est désinfectée par savonnage, puis au sublimé. En retirant l'aiguille, on prend soin, recommande-t-il, d'essuyer l'aiguille avec le tampon du tube stérilisé, ce qui enlève l'oxyde de fer qui peut s'y trouver..."

Un centimètre cube de sang est prélevé. Il est distribué dans trois tubes de

bouillon et trois d'agar, faisant ainsi un abondant ensemencement" (Certes, quand on pense à la quantité obtenue par Eiselsberg à la pulpe du doigt !). Chaque tube reçoit de 10 à 20 gouttes, ce qui est facile, un cm³ de sang représentant 100 gouttes environ de sang.

Les tubes sont refermés, en mettant le bouchon avant de retirer l'aiguille de l'orifice - on la tire ensuite au travers du bouchon, et on passe au tube suivant.

Quels résultats obtient-il ? Nous allons en passer brièvement quelques uns en revue.

En tête viennent 3 cas de septicémie à staphylocoque ou streptocoque (autopsie). En premier, voici une jeune femme de 23 ans, entrée à Lariboisière (Salle Aran) dans le service de Mr Gouguenheim dans un état adynamique grave, avec fièvre à 40°. Une hémoculture est faite par ponction veineuse, 3 jours avant la mort. "Les deux tubes de bouillon ont seuls donné des cultures qui sont reconnues pour être des cultures pures de streptocoques". En contrepartie, au cours de deux autres septicémies à évolution fatale, les hémocultures sont négatives. Ettlinger en conclut que "lorsque la mort survient et qu'on n'a pas trouvé d'infection sanguine pendant la vie, il ne faut pas conclure que le sang ne contenait aucun microbe".

Si, par ailleurs, note-t-il, on obtient en culture le staphylocoque blanc, ne pas oublier que "l'infection sanguine due à cet organisme n'est que rarement signalée de façon authentique". Dans ce cas, il faut s'appuyer sur une inoculation du germe à l'animal.

Au cours de l'érésypèle, l'hémoculture est en règle générale négative, sauf dans quelques cas mortels.

Le staphylocoque doré est cultivé plusieurs fois (ostéomyélite, septicémie post-angineuse, anthrax avec grosses manifestations générales).

Au cours des pneumonies, par contre, le pneumocoque ne passe que bien rarement dans le sang. Les cas à hémoculture positive sont généralement mortels.

La fièvre typhoïde a jusqu'ici donné lieu à des résultats bien peu satisfaisants. Pourtant le germe existe dans la rate, dans les taches rosées. Il doit donc passer dans le sang. Une hémoculture n'aurait de chance d'être positive que s'il s'agit d'un cas très grave. Qui plus est, elle doit être faite au cours du deuxième temps de la maladie (1er temps lymphatique - 2ème temps sanguin, soit après le 8ème jour, enfin 3ème temps de fixation sur les organes).

En conclusion, "on pourra tirer un parti avantageux de l'examen du sang, soit directement, soit à la culture : il vaut mieux toujours associer les deux procédés". Mais - en règle générale le passage des germes dans le sang s'avère une complication rare, réservée aux cas très graves, mortels, de toute maladie. De plus, l'examen du sang fait immédiatement après la mort a la même valeur qu'un examen fait pendant la vie.

Quittons maintenant Ettlinger, pour passer à un de ses contemporains, le Dr P. Canon, de Leipzig. Ses travaux en la matière sont connus et cités des deux côtés du Rhin : il convient donc de s'y arrêter.

Canon passe en revue les procédés habituellement utilisés en Allemagne, à son époque, pour la culture du sang. Les cultures de sang de cadavre, prélevé à l'autopsie, ont donné lieu à quelques controverses. Pour Koch (1878) et Rosenbach (1884) déjà, ces recherches bactériologiques n'ont que peu de valeur. La rapidité de la putréfaction, selon eux, fausse complètement les résultats. En effet, admet Canon, "si on prélève le sang au niveau du cœur, il est possible que l'on y trouve des microorganismes qui sont parvenus, après la mort, des poumons au cœur."

Tout au contraire, le prélèvement à la veine du bras s'est toujours montré sans inconvénient. Sur cinquante cadavres, aucun germe de putréfaction n'a jamais été retrouvé de cette façon. La peau désinfectée est coupée au couteau flambé et le sang recueilli sans toucher la peau en plongeant une öse de platine dans la veine - 6 à 8 gouttes de sang sont ainsiensemencées par verre de gélose.

L'examen du sang vivant, poursuit Canon, est plus difficile, car les staphylocoques de la peau viennent fréquemment souiller la culture. Entre les deux procédés habituels, le prélèvement direct à la seringue est bien préférable, mais pour des raisons pratiques pas toujours réalisable. On pique alors la pulpe du doigt, mais, dans ce cas, il faut ensemencer avec au moins 30 ou 40 öse de sang. De toute façon, on saura répéter les hémocultures, et si le malade meurt, prélever et cultiver le sang du cadavre.

Une cinquantaine d'observations de Canon sont classées en plusieurs groupes. Les

vingt premières concernent des cas à hémoculture positive, sans aucune métastase bactérienne cliniquement décelable. La grande majorité sont des hémocultures sur le cadavre : 3, in vivo seulement, dont deux au cours de scarlatines, s'y ajoutent. Partout : cultures pures de streptocoques. Canon insiste sur le fait que le prélèvement dans la veine du cadavre est fait très tôt, au plus tard 24 heures, dit-il, après le décès.

Une nouvelle série de 20 observations fait suite : l'hémoculture est encore positive, mais des foyers infectieux secondaires rendent plus aisé le diagnostic.

Enfin, 10 derniers cas - désignés sous le nom de "pyémie", à manifestations presque exclusivement locales, ne montrent aucun germe à la culture du sang.

On notera, dit Canon, qu'au début d'une maladie, les hémocultures sont toujours négatives, mais deviennent positives très peu de jours avant la mort. Il n'y a septicémie que lorsque les germes pathogènes se multiplient dans le sang vivant, autrement dit quand les cultures poussent et que le nombre de colonies va croissant au cours de l'évolution. Un tableau clinique de septicémie est presque toujours la règle ; l'abondance et la virulence des germes dans le sang ont vite raison de la résistance de l'organisme.

L'hémoculture, selon Canon, ne peut être positive que s'il y a septicémie vraie, c'est-à-dire pour lui multiplication des germes dans le sang. Ceci exclut donc la possibilité de cultures positives de germes déchargés occasionnellement dans le sang à partir d'un foyer. Remarquons enfin l'importance qu'il attache au prélèvement sanguin sur le cadavre.

Contemporain de Canon, Jakowsky examine le sang des phtisiques à la période de "fièvre hectique". Ses recherches, ainsi d'ailleurs que celles de Petruschky, ont pour but de découvrir un agent responsable de cette fièvre des tuberculeux. En piquant la pulpe du doigt d'un certain nombre de malades (une dizaine) il cultive à partir du sang obtenu soit du streptocoque, soit du staphylocoque, mais hésite pourtant à les rendre responsables de cette fièvre, contrairement à d'autres auteurs.

Citons encore Mya et Tranbusti qui chez deux enfants atteints d'affection fébrile avec anémie intense, isolent pour la première fois le Tétragène. Vincent et Zankarol cultivent le *Bacterium coli* dans le sang au cours d'un ictère grave et dans trois cas d'abcès du foie.

L'année suivante, c'est-à-dire en 1894, paraît un article d'un élève de Koch, Johannes Petruschky, sur les "examens du sang chez les malades vivants", à l'occasion d'"infections par cocci pyogènes". Dans cet article sont résumées des recherches entreprises depuis 1892 sur les conseils et les indications de Koch lui-même. et si nous nous y arrêtons quelque peu, c'est en particulier pour la méthode bien particulière dont Petruchsky se sert pour ses prélèvements. Nous en avons déjà dit un mot auparavant, elle est assez surprenante quand on sait tous les risques de souillure accidentelle que comporte tout contact avec la peau du sujet.

Les premiers travaux de Petruchsky avaient eu lieu avec la méthode bien connue de piqûre au doigt du malade, et à partir de la goutte de sang obtenue, soit culture, soit examen direct sous le microscope. Mais,

remarque Petruchsky, ce mode de prélèvement donne une majorité de résultats négatifs, alors qu'après la mort du sujet, le sang du coeur, voire l'exsudat péricardique, fourmillent de streptocoques. La question s'est posée alors de savoir si oui ou non les germes étaient susceptibles de passer dans le sang du sujet vivant. A cela une réponse : Petruchsky n'ignore pas qu'un certain nombre d'auteurs (de ceux cités précédemment ici) ont, occasionnellement, eu des hémocultures positives in vivo. Les résultats de Canon ne lui semblent pas convaincants : presque tous les résultats positifs viennent de prélèvements sur le cadavre. Or, nous l'avons vu, Canon, sans ignorer la ponction veineuse directe, trouvait plus commode en général la piqûre du doigt de ses malades.

En conclusion, dit Petruchsky, le problème est simple : tous ces auteurs n'employaient que des quantités très insuffisantes de sang. Bien entendu, il ne faut pas mêler au milieu de culture trop de sang, car le milieu deviendrait trouble et les petites colonies pourraient passer inaperçues, mais on doit répandre le sang sur une quantité d'agar complètement figé, l'eau de condensation en étant partie.

Ce n'est pas chose facile avec une seule goutte de sang, et il n'est pas question de faire une section veineuse pour chaque prélèvement. De la seringue, Petruschky ne dit pas un mot... Il recommande l'usage de quelques ventouses scarifiées, d'autant, dit-il, que c'est là moyen thérapeutique populaire, donc volontiers accepté par les malades. Voici le détail des opérations :

8 ventouses, stérilisées à la chaleur sèche, sont préparées, avec scarificateur, et ôse

de platine pour le prélèvement. Le dos du patient est désinfecté, à l'emplacement choisi, avec un coton imbibé d'éther, puis à l'alcool absolu.

Pour contrôler la stérilité de la peau, Petruschky, à plusieurs reprises, racle avec un scalpel stérile la région désinfectée, après évaporation de l'alcool. Les squames obtenus sont ensemencés sur une boîte de gélose. Ce contrôle est demeuré stérile en général, une ou deux fois cependant, de très gros cocci ont poussé).

Puis pose de 4 ventouses sèches, et après prise de ces dernières, scarification en une seule fois. On utilise pour l'ensemencement le sérum surnageant en surface, prélevé avec une seringue de Koch : 1 cm³ est employé pour chaque flacon de gélose ou de bouillon. Parallèlement, une certaine quantité est injectée à la souris blanche.

Le seul inconvénient de la méthode est qu'une forte quantité de globules sanguins demeure en suspension dans le sérum, d'où trouble du milieu. Des contre-expériences, réalisées avec le sang de sujets sains, ont montré l'absence totale de germes en culture dans ce cas. L'injection parallèle à la souris est nécessaire pour contrôler le pouvoir virulent des streptocoques en particulier.

Quels résultats obtient Petruchsky ?

Sur 14 hémocultures, au cours d'infections puerpérales (4 cas mortels) 9 sont positives, en majorité avec des streptocoques, comprenant 3 cas mortels.

Au cours de 6 "phlegmons septiques", 4 cultures à streptocoques sont réalisées.

Sur 2 endocardites : l'une est fatale, et, avant la mort, du streptocoque est retrouvé, l'autre guérit : l'hémoculture est négative.

Dans 3 cas d'érésypèles, par contre, on n'obtient aucun résultat.

Chez huit malades atteints de tuberculose pulmonaire évolutive, dont cinq à terminaison fatale : une hémoculture positive avec streptocoques.

Il ne s'agit pas de germes de souillure, prévient l'auteur, car tous ces germes étaient hautement virulents pour la souris blanche. Quelques autres cultures de staphylocoques dorés l'étaient également.

Si on obtient des staphylocoques blancs, il est nécessaire de répéter les examens par sécurité.

En conclusion, Petruschky est en désaccord avec la thèse de Canon, c'est-à-dire que pour lui une hémoculture positive, en dépit de l'extrême virulence des germes cultivés, n'est pas toujours signe de pronostic fatal. Il ne faut pas oublier, ajoute-t-il, que la virulence des germes n'est pas nécessairement identique chez l'animal à ce qu'elle est chez l'homme. Si après infection de la souris inoculée, on cultive son sang de la même façon que le sang du sujet, les résultats sont absolument semblables. Dans tous les cas, pour plus de sécurité, on ensemencera simultanément un milieu solide (agar-agar) et un milieu liquide (bouillon).

En la comparant à celles de ses prédécesseurs et contemporains, la méthode de Petruschky peut aujourd'hui nous surprendre, car elle augmente considérablement les risques de souillure, d'une part au cours du prélèvement, d'autre part pendant les diverses manipulations qui suivent.

Par contre, il faut remarquer la conscience avec laquelle il contrôle les résultats obtenus. De toute façon, le cas de Petruschky demeure isolé. La tendance, de plus en plus, se fait vers des méthodes moins risquées. Nous allons le voir avec les travaux de son compatriote, Georg Sittmann, de Munich.

Tout comme Petruschky, Sittmann met les échecs des auteurs précédents sur le compte de l'insuffisance du prélèvement sanguin. Si on voulait obtenir plus de quelques gouttes de sang, il fallait faire une coupure de la peau et les risques d'erreurs augmentaient quand il s'agissait de staphylocoques ou de streptocoques. Le fort pourcentage de résultats négatifs avait même, jusqu'en 1893-94 apporté des arguments à ceux qui pensaient à une intoxication sanguine par les toxines microbiennes. Même Baungarten, qui admettait et avait observé la présence de germes pathogènes dans le sang, soutenait que, vu leur petit nombre, la majeure partie des symptômes relevait d'une toxémie. La question est donc, en 1894, de prouver d'une façon aussi simple que possible que les germes se trouvent bien dans le sang du septicémique, permettant de faire le diagnostic exact de l'affection et d'en tirer des éléments de pronostic. Ceci n'est possible qu'avec deux méthodes : d'une part un prélèvement important et aseptique par ponction d'une veine ; d'autre part un ensemencement dans la masse d'un milieu solide et d'un milieu liquide, bien supérieur à l'ancien procédé d'ensemencement en surface.

La présence dans une culture pratiquement stérile d'une ou deux colonies dans un coin sera suspecte de souillure (germe aérien notamment). Les petites colonies de certains germes (staphylocoques) s'entourent

vite d'un halo clair permettant de les identifier très-tôt.

Depuis 1890, Sittmann fait ses cultures de la manière suivante :

Il emploie pour le prélèvement une seringue en verre de 5 cm³, avec piston en amiante, et monture métallique. Les joints de cette monture ne doivent pas être en cire à cacher, mais en mastic résistant à la chaleur. Cette seringue aura été désinfectée par 4 heures d'ébullition dans une solution de soude à 1 %, puis gardée dans une cassette de fabrication spéciale pour éviter tout contact. On monte une aiguille large à biseau court.

Pour la désinfection de la région (pli du coude, face antérieure de l'avant-bras) : lavages à la brosse et au savon, puis sublimé, alcool et éther (les 3 sont nécessaires). Un garrot est posé, et cinq centimètres cubes de sang sont prélevés, puis mélangés avec les milieux utilisés. Aucune suite pathologique locale à la ponction veineuse, note Sittmann...

La virulence des germes obtenus sera mise en évidence : par injection dans la chambre antérieure de l'oeil du lapin, pour le staphylocoque ; par inoculation à la souris, pour le streptocoque. Pour la plupart des autres germes, ne vivant pas à la surface de la peau, cette précaution n'est pas nécessaire.

Cinquante trois hémocultures sont pratiquées de cette façon chez le sujet vivant.

Au cours de 9 septicémies avec localisations infectieuses secondaires (septicopyohémies), le germe responsable est retrouvé à chaque fois par culture du sang. Les prélèvements ont été faits aussi bien plusieurs jours que quelques heures avant la mort. On remarquera, dit Sittmann, que le fait de trouver des ger-

mes dans le sang ne signifie pas nécessairement pronostic fatal. En effet, l'évolution de la maladie dépend bien de la nature et du nombre de germes, mais - et c'est le facteur essentiel - elle varie considérablement suivant le pouvoir de résistance de l'organisme. Ce disant, Sittmann est en contradiction, dans une certaine mesure, avec l'opinion de Canon, tout comme Petruschky. Si nous lisons les deux premières observations de cette série, nous trouvons un premier cas de septicémie à point de départ urogénital, chez une jeune fille de 24 ans, qui sortira guérie de l'hôpital un mois plus tard. Son sang est prélevé vers le milieu du séjour, pendant une poussée fébrile. Les 2 ou 3 cm³ recueillis donneront naissance à cinq cultures de staphylocoques blancs, pathogènes pour le cobaye.

Par contre, le prélèvement suivant, est fait chez une jeune femme de 26 ans, au cours d'une septicémie post-partum, et 6 heures avant la mort de la malade (température : 36°): le sang contient des streptocoques. Enfin, les 6 hémocultures citées encore par Sittmann, au cours de diverses septicémies mortelles, ont donné les germes suivants : staphylocoque doré, colibacille, streptocoque.

Une deuxième série d'observations concerne des malades hospitalisés pour affection aiguë au niveau du foie (abcès), des voies biliaires (cholécystite aiguë). Deux résultats positifs à colibacilles et staphylocoques. Un contemporain de Sittmann, Ziegelmaier avait fait des recherches analogues au cours d'atrophies jaunes aiguës du foie, mais aucune hémoculture n'avait été positive.

Nous avons ensuite 16 cas de "pneumonie croupeuse". Le pneumocoque y est cultivé, à partir du sang, dans quatre formes à évolution

mortelle et deux autres, très graves, mais se terminant néanmoins par la guérison. Sittmann est d'accord avec la plupart de ses contemporains sur la gravité pour le pronostic de la découverte du germe dans le sang.

La typhoïde ne semble pas avoir été l'objet de recherches particulières ici : il se borne à remarquer que les premiers à rechercher des germes n'avaient obtenu que des pyogènes banaux, la culture du bacille d'Eberth devenant plus fréquente par la suite. Chez des tuberculeux à la période de fièvre hectique, (3 ou 4), des hémocultures à pyogènes banaux ont été obtenues. Il en est de même pour Jakowsky (7 sur 9), qui les rendrait responsables de cette fièvre. Sittmann, lui, est beaucoup moins affirmatif.

Pour finir, l'hémoculture a une valeur négative au cours du rhumatisme articulaire aigu. Lorsqu'on pose cliniquement le diagnostic de R.A.A., la culture du sang ne devrait donner aucun germe, de même qu'un prélèvement dans une articulation intéressée. En cas contraire, il s'agit vraisemblablement d'une métastase articulaire lors d'une septico-pyohémie. Les 3 observations (concernant des atteintes de gravité croissante) rapportées ensuite, montrent bien cette absence de germes dans le sang et in situ.

Sittmann conclut sur l'intérêt indiscutable de l'hémoculture : "l'examen bactériologique du sang représente donc le moyen auxiliaire le plus sûr pour le diagnostic de septicopyohémie". La nature du germe, dans une septicémie cryptogénétique, donne de précieuses indications sur la porte d'entrée : une hémoculture positive à colibacilles, par exemple, fait rechercher une affection de l'intestin, des voies biliaires ou de la vessie.

L'hémoculture a maintenant , en quelque sorte, mérité ses premiers titres de noblesse. Nous l'avons vue au rang de curiosité plus ou moins révolutionnaire dans ses débuts. Elle est devenue un moyen de vérification post mortem d'un diagnostic incertain, puis une méthode accessoire concourant, non sans incertitudes, au diagnostic de septicémie. La voilà, avec Sittmann, promue au rang de "moyen le plus sûr pour le diagnostic". Le procédé inauguré pour la première fois ici de façon systématique, c'est-à-dire le prélèvement veineux direct dans une seringue stérile, est responsable de cette évolution.

Le problème de la fièvre "hectique" des tuberculeux est à l'ordre du jour. Les résultats obtenus par Jakowski et ses collaborateurs - par Sittmann lui-même - n'ont pas satisfait tout le monde, en particulier Straus. Leur interprétation de la fièvre hectique était la suivante : un état septicémique développé chez ces sujets prédisposés par les ravages dûs au bacille de Koch. Or le procédé employé par Jakowski est cette ancienne méthode de la piqûre du doigt. Les résultats semblent pourtant remarquables : 8 hémocultures sur 9 poussent. "Je crains bien", dit Straus, "que ces résultats positifs si constamment et si facilement obtenus ne soient que la conséquence d'une faute de technique".

Comment le prouver ? Straus prélève le sang de 13 phtisiques à la même période de la maladie, mais avec le procédé couramment employé par lui depuis plusieurs années : il prend donc le sang à une veine du pli du coude. Sa méthode et celle de Sittmann sont semblables, mais la seringue comporte le piston en moelle de sureau imaginé par lui. La veine est piquée en dirigeant la pointe de l'aiguille vers l'avant-bras, du sang aspiré dans la seringue.

On ôte le garrot, puis l'aiguille est retirée de la veine.

Ainsi les contacts avec la peau et avec l'air sont presque nuls, et autant de sang que l'on veut est obtenu. Ce sang est poussé dans un tube à essai stérile, et de là ensemencé largement sur gélose et en bouillon. Il peut être intéressant de faire 2 hémocultures : le soir en période fébrile et au moment de la rémission matinale. Or même au maximum de la fièvre, dans des tuberculoses cavitaires bilatérales avec cachexie marquée, les résultats ont toujours été négatifs. Pourtant, fait remarquer Straus, les conditions sont bien plus favorables que celles de Jakowski au développement des germes, puisque l'cc est utilisé au lieu d'une goutte, et le nombre total de tubes de culture est plus grand. Le sang des tuberculeux en pleine fièvre hectique se révèle donc constamment stérile, il ne s'agit pas d'une septicémie, et la fièvre des phtisiques ne peut être mise habituellement sur le compte d'une infection secondaire.

Quand, d'autre part, on obtient des streptocoques dans le sang de tels malades après leur mort, il s'agit d'une altération post-mortem sans valeur.

Une discussion analogue est rapportée par Fernand Vidal. Là encore s'affrontent tenants des anciennes et des nouvelles méthodes. Une communication de Lebreton à la Société Médicale des Hôpitaux, toujours en 1894, concerne une hémoculture chez une jeune fille de dix-huit ans, atteinte d'un purpura infectieux particulièrement sévère. Le prélèvement est fait dès l'entrée de la malade à l'hôpital Saint-Antoine par Macaigne, Chef de Laboratoire. Après des lavages répétés savon- sublimé-éther, on fait une piqûre du doigt et un ensemencement avec chaque fois une goutte de sang, recueillie à la

pipette stérilisée, dans cinq tubes d'agar et 3 de bouillon. Il obtient de nombreuses colonies de staphylocoque blanc et quelques colonies de staphylocoque doré.

Lebreton semble avoir quelques scrupules concernant ce résultat. Il ajoute en effet : "je sais que le staphylocoque est tellement vulgaire qu'il ne présente pas la même valeur lorsqu'on le trouve dans des cultures du sang pris par piqûre... Cependant, dans ce cas, toutes les cultures ont donné des colonies et toutes les précautions d'asepsie ont été prises..."

Ce n'est pas, semble-t-il, l'avis de Widal. Dans la discussion qui suit, il critique le résultat de Lebreton, disant "... que la recherche du parasite dans le sang doit être faite en puisant quelques gouttes dans la veine avec la seringue stérilisable de Straus, car en pratiquant les ensemencements avec une goutte de sang prise par piqûre au niveau du doigt, on risque d'être gêné par les parasites de la peau normale".

Cela n'empêche pas Netter, quelques mois plus tard, de préciser, au cours d'une observation d'infection pneumococcique généralisée que "les investigations ont porté sur le sang obtenu par piqûre de l'index après toutes les précautions habituelles. La culture a montré la présence du pneumocoque associé au staphylocoque doré".

Après ses expériences d'ensemencement destinées à mettre en évidence les germes cutanés, Hulot emploie naturellement le prélèvement intraveineux au cours de ses recherches sur les affections à point de départ cutané. La difficulté est là plus grande qu'ailleurs : ce sont des staphylocoques - blancs ou dorés -

que ses cultures mettent en évidence, les mêmes précisément dont nous avons vu avec lui la présence sur la peau. Il lui faut être particulièrement sûr de sa technique pour qu'aucun doute ne subsiste quant à l'origine des germes cultivés. Notons cette observation d'un cas de varicelle aux vésicules infectées, au cours duquel le sang "pris dans une veine du pli du coude avec une seringue stérilisée et ensemencé sur gélose et sur bouillon nous donne des colonies de staphylocoque blanc très virulent, mortel pour l'animal auquel il a été injecté".

Il ne serait pas possible, et de toute façon on ne verrait guère l'intérêt d'énumérer tous ceux qui pendant les dernières années du siècle ont utilisé l'hémoculture, en s'inspirant de la technique nouvellement découverte. Citons encore quelques noms : Le bacterium coli est cultivé à plusieurs reprises, et dans des circonstances fort variées. Sirédey et Bodin signalent sa présence dans le sang au cours d'une infection secondaire à une grippe. Hanot le retrouve à l'occasion d'un ictère grave. Quelques années plus tard (1899), Vautrin cultive le sang de trois femmes, atteintes d'une septicémie secondaire à l'ablation d'un fibrome, et y observe le même germe. Une association B. coli et pyocyannique est notée, au cours d'une septicémie, par Finkelstein, et Coli + tétragène sont cultivés par Sewer Sterling à l'occasion d'une endocardite ulcéreuse.

Les prédictions de Pasteur sur la présence de germes dans le sang du sujet atteint de peste sont confirmées. Stricker en 1897 examine au microscope et cultive le sang de

50 pestueux, en en prélevant seulement quelques gouttes. Toutes les hémocultures sont positives. Il en conclut que le seul moyen de diagnostic de la septicémie pesteuse primitive est la recherche dans le sang.

Les milieux utilisés pour la culture des germes sont toujours semblables : gélose, bouillon. Mais en 1895, Schottmüller y ajoute la gélose au sang. Il découvre simultanément le pouvoir hémolytique du streptocoque pathogène, soulève la question des hémolysines et, la même année, observe et décrit le "*Streptococcus viridans*" dont il discute le rôle dans les endocardites lentes. Sternberg, peu de temps après, conseille de cuire le sang au préalable, ce qui améliore les conditions de culture.

Les résultats négatifs sont assez fréquents lorsque des hémocultures sont faites au cours de processus purulents localisés, phlegmons et arthrites, et même de septicopyhémies. Kühnau, en particulier, n'obtient dans 23 septicopyhémies, et malgré des examens répétés, que trois hémocultures positives (streptocoques et staphylocoques). Des tentatives répétées à l'époque pour cultiver des germes chez les rhumatisants (Achalme et Thiroloix, 1898) ont le même insuccès, et il faut ranger la typhoïde dans ce groupe, si l'on en croit Achalme : "L'on ne saurait s'étonner davantage", écrit-il, "de la rareté du germe dans le sang des rhumatisants que de l'absence de bacille d'Eberth dans ce milieu au cours de la fièvre typhoïde". Pourtant, Gwyn, la même année, isole pour la première fois du sang d'un sujet atteint "d'une fièvre continue à allure sérieuse" un bacille ressemblant au bacille typhique. Ce germe n'est pas identifié, semble-t-il, et c'est Schottmüller

l'année suivante qui reprendra les travaux en ce domaine et isolera du sang les bacilles paratyphiques A et B.

L'hémoculture avec le sang du cadavre est toujours utilisée, même lorsque l'examen sur sujet vivant s'est révélé à plusieurs reprises négatif. Monod et Macaigne, puis en 1895, Achard et Phulpin, l'emploient régulièrement: ils rapportent 24 observations où l'hémoculture n'avait rien donné même à l'agonie, alors que juste après la mort, elle devenait régulièrement positive. L'interprétation de semblables résultats, est-il besoin de le dire, nous semble aujourd'hui, et semblait déjà à l'époque, quelque peu hasardeuse. Pour Austerlitz, Landsteiner, Opitz, les germes intestinaux et autres ne pénètrent jamais dans le sang durant l'agonie, et une hémoculture faite à ce moment demeure valable. Inversement, l'absence de germes dans le sang du cadavre immédiatement après le décès a une grande valeur: on est certain qu'il n'y avait pas bactériémie.

La distinction entre fin du 19ème siècle et début du 20ème, en ce qui concerne l'hémoculture, est tout à fait arbitraire. Le courant qui s'est deviné vers 1890, notamment l'extension de la méthode grâce aux nouveaux procédés de culture et de prélèvement, va, nous allons le voir, se poursuivre logiquement dans le cours des années suivantes. Mais l'outil commence à être bien en main, et son usage se généralise partout. Un chapitre de l'hémoculture a été volontairement laissé de côté: il serait bien peu fourni avant 1900. Il s'agit de la culture des germes anaérobies dans le sang. Pour plus de clarté, il a semblé préférable de grouper à part tout ce qui la concerne. Nous abordons maintenant

une nouvelle période : celle des soixante dernières années. En fait, l'histoire de l'hémoculture peut s'arrêter vers 1930, car ensuite elle se confond avec toutes les pratiques médicales courantes et son histoire n'en est plus guère distincte.

L'HEMOCULTURE AEROBIE APRES 1900

Les maladies dont l'hémoculture est un moyen courant de diagnostic. Pourtant, avant 1900, aucune culture positive du bacille d'Eberth n'était obtenue dans ces conditions. Dans certains cas, nous l'avons vu, des pyogènes banaux étaient retrouvés dans le sang des typhiques, mais peut-être ne s'agissait-il pas de typhoïdes, ou, plus probablement, les germes provenaient d'une souillure de la culture.

C'est un article de Schottmüller dans la "Deutsche medizinische Wochenschrift" qui exprime pour la première fois l'opinion que le sang du typhique contient à un moment donné le bacille d'Eberth, et par conséquent qu'un prélèvement sanguin à cette période de la maladie permet de cultiver ce germe. "Pour la pathologie de la typhoïde", écrira-t-il un peu plus tard, "le fait soutenu en premier par nous et confirmé par d'autres auteurs, que le bacille d'Eberth se trouve dans le sang en quantité suffisante du premier au dernier jour de la fièvre est de signification particulièrement importante". Si une quantité modérée de sang, 2 à 5 cc, suffit en général, il est recommandé d'en prélever une grande quantité (15 à 20 cc, ce qui est énorme pour l'époque), et d'ensemencer en gélose liquéfiée répartie dans une série de boîtes de Petri.

Un milieu spécialement adapté pour la culture de ce bacille est signalé, outre Schottmüller lui-même, par Conradi et Kayser : il s'agit soit d'un milieu enrichi en bile, soit de bile de boeuf pure, à raison de 10 cm³ par tube, stérilisée à l'autoclave. Chaque tube reçoit 2 à 3 cc de sang. Schottmüller obtenait ainsi sur 50 hémocultures quarante résultats positifs, et la même année, Castellani avait des résultats également intéressants (12 sur 14) par ensemencement sur bouillon liquide en ballons de 300 cm³. La méthode employée et la date du prélèvement sont pour beaucoup dans ces résultats, et, insiste Schottmüller, les formes les plus simples de prélèvement ne suffisent en aucun cas. Il emploie donc la technique devenue habituelle de ponction d'une veine (pli du coude chez l'adulte - jugulaire chez l'enfant), le matériel étant au préalable stérilisé à la chaleur sèche.

En France, Busquet s'attaque à la typhoïde, lui aussi. Tout comme Castellani, et quelques autres, il pense que "la technique la meilleure sera donc celle qui tout en permettant d'introduire dans le milieu de culture une grande quantité de sang, n'expose pas les germes présents à l'action empêchante du sérum" (F. Besançon). Puisqu'il faut beaucoup de milieu de culture, tout en ensemençant beaucoup de sang, une seule conclusion s'impose: le plus grand nombre possible de ballons. C'est pourquoi Busquet n'hésite pas à faire ses hémocultures par séries de 20 à 30 ballons de 250 cm³., remplis de bouillon peptoné et portés à l'étuve à 37°. Chaque ballon ne reçoit que deux gouttes de sang et, n'étaient le matériel et la place nécessaires, sa méthode serait pleine d'intérêt, puisque dans 38 cas de Typhoïde, il obtient 38 fois le bacille d'Eberth.

Son contemporain, Courmont se limite à un seul grand ballon, avec le même milieu, qui reçoit 3 cm³ de sang fraîchement prélevé. Examen le deuxième jour après séjour à l'étuve (37°). Les noms de Widal, de Rufus Coles et Hewlet aux Etats-Unis, restent attachés à des études analogues concernant le même germe.

Revenons à Schottmüller. Nous avons vu que dès 1895 il recommandait une méthode de culture sur boîtes d'agar au sang. En cas de nécessité, il est même possible, en quelque sorte, de faire la gélose au sang... avec le sang même du malade. On mélange 1/3 de sang pour 2/3 d'agar fondu et on coule à la surface d'une boîte de Pétri, ou dans de larges tubes peu inclinés. Remarquons que ce principe va directement à l'encontre de la méthode préconisée par Busquet. Une bactériémie unique ne signifie nullement septicémie, mais n'en a pas moins la valeur d'un symptôme d'alarme. Il est souvent nécessaire de compter les cultures : si la quantité de germes est trop faible (et correspond à une quantité égale ou inférieure à 100.000 dans le sang), la preuve par la culture devient très incertaine.

Si aucun diagnostic n'a été porté du vivant du malade, il peut être utile d'ensemencer le sang du cadavre, à condition que ce dernier ait été conservé en chambre froide, et que le décès remonte à 12 heures au plus. On dégagera le cœur sans en blesser la surface, et un assistant saisit l'organe par derrière. Après stérilisation de la face antérieure avec une lame portée au rouge on fait une piqûre avec une aiguille montée sur un cylindre de verre bouché par un tampon de coton. Par expression manuelle de l'organe, le cylindre se remplit

de sang. Ainsi ont pu être cultivés de nombreux germes, streptocoques surtout, pneumocoques et colibacilles également.

Les travaux de Schottmüller marquent l'évolution de l'hémoculture en Allemagne. Il faut s'arrêter, en France, sur ceux de Lemierre dont la thèse sur "l'ensemencement du sang pendant la vie" représente sans doute la première étude complète de ce sujet.

Le prélèvement est fait dans une veine du bras :

"On met une ligaturé assez serrée au niveau du bras de façon à bien faire saillir les veines du pli du coude. Puis on lave soigneusement cette région au savon, au sublimé et à l'éther. Il nous paraît inutile de mettre une pointe de feu au point où l'on doit piquer, et encore moins, comme le font certains auteurs, de dénuder une veine au bistouri." Il s'agit probablement de Kühnau, qui conseille en effet de fendre la peau, préalablement désinfectée, avec un couteau stérile, en regard de la veine que l'on pense piquer.

"On enfonce rapidement une aiguille dans une veine et on aspire lentement le sang. La seringue ayant été remplie et vidée une ou plusieurs fois, on supprime la ligature du bras... La plaie produite par l'aiguille est tellement insignifiante que nous nous contentions de la tamponner un instant et que nous l'abandonnions ensuite sans même la fermer avec une perle de collodion. Nous n'avons jamais observé le moindre accident."

Or, "il semble bien que les chances de

réussite soient proportionnelles à la quantité de sang prélevée". Il vaudrait mieux ensementer de très larges quantités de sang, mais Lemierre se pose alors la question : le sang n'a-t-il pas un pouvoir bactéricide tel que sa présence en forte quantité inhibe le développement du germe ? Si l'on en croit Busquet et Courmont, la réponse est affirmative. Lemierre expérimente alors le vieux procédé de "culture autogène", déjà utilisé chez l'animal par Roger, Weil et Lignères (rappelons-nous Delafond un demi-siècle plus tôt).

"Nous avons cherché", dit-il, "si l'on ne pourrait simplifier encore la technique en supprimant complètement le milieu de culture et en laissant se développer les microbes dans le sang lui-même..Le sang prélevé est versé immédiatement dans un tube d'assez gros calibre, contenant quelques perles de verre." Dans 24 cas à hémoculture positive, 22 ont donné des cultures autogènes, "si bien qu'en faisant des étalements sur lame et en colorant on pouvait voir les germes en grande abondance." Mais si cette méthode est simple, elle n'est pas clinique, car avec elle, les microbes se développent en général plus lentement que par l'emploi des milieux de culture usuels."

Baur, en Allemagne, avait essayé un procédé voisin : il plaçait à l'étuve le sang du malade, additionné d'un demi-volume de glucose.

- Cette méthode ne peut être recommandée, écrit Lemierre, car "elle n'est pas clinique". Jusqu'ici, bien peu d'auteurs semblent s'être préoccupés de la rapidité des résultats, ou du moins n'avaient pas souligné l'importance de ce fait. Il ne suffit plus maintenant qu'une hémoculture soit facile à

faire, qu'elle offre toute garantie d'authenticité : c'est devenu, pour reprendre le titre de sa thèse, un "procédé d'investigation clinique" parfaitement valable, encore faut-il que la rapidité des résultats permette d'orienter au plus tôt la thérapeutique. Nous pouvons passer en revue quelques maladies où Lemierre cite ses observations personnelles.

La typhoïde vient en premier. La présence de bacille d'Eberth dans le sang en est un symptôme constant. Ici tout particulièrement, il faut plus de 10 cm³ de sang. Si on ensemence parallèlement un ballon avec cette quantité, et qu'un même volume est fractionné dans d'autres récipients, le premier pousse toujours, mais 2 sur 10 seulement des autres ballons donnent un résultat.

Cela ne dispense pas de diluer ce sang dans une quantité de milieu égale à environ 400 cm³ (eau peptonée). L'intérêt de l'hémoculture est de donner des résultats quand le sérodiagnostic n'est pas, ou n'est pas encore, positif, ou bien lorsqu'un malade a été auparavant atteint de la maladie, son sérodiagnostic demeurant longtemps positif. La méthode n'a aucune valeur pronostique, et le sérodiagnostic sauf dans les cas vus plus haut, demeure plus usuel et plus pratique en clinique.

Les quatre observations suivantes concernent la découverte dans le sang d'un colibacille très virulent. Dans les deux premières, ce germe n'a pu être cultivé qu'après la mort : il s'agissait d'un phlegmon de la fosse ischio-rectale, suivi de septicémie, et d'un cas de fièvre puerpérale. Mais à deux reprises le colibacille est isolé par Lemierre dans le sang du sujet vivant, et en

dépit de la virulence extrême du germe, un des malades guérit.

Au cours des pneumococcies, Lemierre semble avoir obtenu le pneumocoque plus souvent que ses prédécesseurs, 15 fois environ sur 70, pour 1/3 de mortalité. L'ensemencement est fait à la période d'état et devient ensuite négatif. Une hémoculture positive est souvent signe de gravité. L'intérêt essentiel ici est le diagnostic des formes atypiques, des rechutes. Relevons en particulier une observation de méningite à pneumocoque, où la découverte par culture du sang a permis le diagnostic. Mais en règle générale, même dans les formes graves, le passage des germes du foyer dans le sang, s'il a lieu, est très rapide, d'où la rareté des cultures positives. A noter qu'à diverses reprises on a cultivé le Friedlander, alors qu'on pensait trouver le pneumocoque (les cas signalés par Etienne en 1895).

Le charbon humain a donné lieu à des hémocultures positives dans les mains de Chauffard (1903) et de Boidin, permettant ainsi un diagnostic précoce de la maladie.

Les cocci pyogènes, nous l'avons vu, ont depuis longtemps été cultivés à partir du sang, avec les réserves habituelles concernant le staphylocoque blanc. Dans ce dernier cas, il devient nécessaire de répéter le prélèvement.

Une remarque de Lemierre concerne la valeur de l'injection du produit de la culture à l'animal pour tester la virulence du germe. Nombreux sont ceux qui, précédemment, se basaient sur la valeur de cette méthode. Ce n'est pas l'avis de Lemierre.

Pour le streptocoque comme pour le staphylocoque, il n'y a pas de rapport entre la forme et la gravité de l'infection chez l'homme et la virulence pour l'animal. D'autre part, on a pu avoir la preuve qu'un staphylocoque réellement présent dans le sang humain ne manifeste parfois aucun pouvoir pathogène vis-à-vis de l'animal d'expérience.

L'hémoculture positive peut influencer de façon déterminante le traitement : au cours de phlegmons des membres, par exemple, elle peut décider de l'amputation. Par ailleurs, on peut suivre à l'aide d'hémocultures répétées l'efficacité d'un traitement au collargol.

Le gonocoque peut être présent dans le sang au cours d'affections générales hémorragiques avec ou sans endocardite, comme il ressort des travaux de Hewes (1894), Thayer et Blumer (1895), Ahmann (1897). Lemierre insiste sur la quantité de sang à prélever (plus de 10 cm³), et sur le milieu de culture : bouillon ascite, lait, gélose au sang, gélose ascite. Tout comme pour le pneumocoque, cet examen n'a d'intérêt que pour les localisations atypiques (pneumonie) et à porte d'entrée inconnue.

En conclusion, Lemierre considère l'hémoculture comme une méthode d'exploration simple et féconde en résultats. Son utilisation principale est la typhoïde car c'est la seule maladie où le passage des germes dans le sang soit à la fois constant et important. Il est curieux de noter le changement d'opinion concernant l'hémoculture au cours de cette maladie. Avant 1900, nous l'avons vu, c'était une des

affections où l'hémoculture avait été le plus souvent négative, les germes les plus fréquents au cours de cultures du sang étant sans contredit les pyogènes. Après 1900, rendons hommage à Schottmüller, elle devient l'affection où l'hémoculture offre le plus d'intérêt.

Lemierre cite, parallèlement à ses propres résultats, les travaux d'un certain nombre de ses contemporains. On relève en particulier le nom de Calvert, en Allemagne, qui s'occupe surtout de la peste. Le fait d'obtenir des hémocultures positives dans cette maladie n'a rien de nouveau ni d'exceptionnel mais son nom mérite d'être noté, car, dans les 36 cas étudiés, le sang était prélevé, à raison de quelques gouttes, au moyen d'une piqûre du lobule de l'oreille, puis le germe recherché par "examen direct sur lame, par culture ou par inoculation"...

Trastour, en 1904, publie dans sa thèse 9 cas d'hémocultures à entérocoques, sur bouillon d'eau peptonée, et deux auteurs allemands, Niessen et Runge, cultivent, ce qui est tout à fait exceptionnel, le bacille de Klebs-Loeffler comme agent de surinfection, à la suite d'une intervention sur pleurésie purulente à pneumocoques, en particulier.

La grippe est aussi l'occasion d'hémocultures, mais, note Isambert (1902), on groupe souvent sous ce nom des affections à germes pathogènes très divers. Alors que Lemierre n'obtient que des résultats négatifs, il isole, comme plusieurs autres, le coccobacille de Pfeiffer dans le milieu de culture. Il s'agissait donc, conclut-il, d'une septicémie à Pfeiffer.

Peu de nouvelles méthodes de culture peuvent être ajoutées aux techniques précédemment signalées. Sacquépée et Perquis n'utilisent que le sang défibriné après prélèvement, et le répartissent à raison de 20 gouttes à chaque fois dans 10 ballons de 100 cm³ : c'est la méthode de Busquet en plus simple. D'autres citratent le sang et n'ensemencent que le culot après centrifugation.

Nous ne quitterons pas les années 1900 à 1905 sans citer le nom de Lenhartz, directeur de l'hôpital Eppendorf à Hamburg. C'est en effet un des partisans convaincus de l'intérêt de l'hémoculture, et en même temps un de ceux qui a réuni le plus grand nombre de résultats positifs. Sur 218 cas, 156 ont été l'objet d'hémocultures, avec des germes variés (streptocoques, pneumocoques, colibacilles et staphylocoques). Un peu plus de la moitié (80 environ) ont été faites lors de la vie du malade, le reste après sa mort, et 95 % de ces hémocultures, ce qui est assez impressionnant, sont positives. Or Canon n'a obtenu que 57 % de résultats positifs, Petruschky 45, Sittmann 43 % et Kühnau 11. Lenhartz, tout comme Lemierre, a clairement vu les deux conditions essentielles de l'hémoculture :

- prélever de grosses quantités de sang,
- diminuer le danger de souillure extérieure, cause d'erreur pour certains pyogènes.

Il recommande la culture simultanée en milieu anaérobie, dont il sera question plus tard.

L'instrument de prélèvement est la seringue de Luer, dont corps et piston sont entièrement en verre. Elle est munie d'une forte aiguille de 6 cm de long, et stérilisée à la chaleur sèche, puis conservée

toute montée dans un tube en verre stérile jusqu'à l'emploi. Un fil métallique est mis dans la lumière de l'aiguille et son extrémité en forme d'öse est suffisamment loin de cette dernière pour qu'on puisse le retirer aisément et sans risque. Avant la ponction, la peau est désinfectée à fond (eau de savon, sublimé, alcool et éther), éventuellement fendue en regard de la veine (comme le conseille Kühnau), que l'on pique en remontant le courant sanguin.

Il est absolument nécessaire de préparer les milieux de culture près du lit du malade, et d'ajouter immédiatement le sang au milieu, car on diminue beaucoup les causes de souillure. En dehors de l'hôpital, on recueille le sang dans des flacons appropriés, à fermeture stérile, avec des perles de verre permettant de le défibriner par agitation. D'autre part, il est souhaitable que la pression sanguine repousse elle-même le piston, sans avoir à aspirer le sang. On prélève 20 cm³ si possible. Ce sang ne doit pas rester à la surface d'un milieu figé, car si les germes sont peu nombreux, les propriétés bactéricides du sérum sanguin finiront par les détruire. De même, il faut éviter que le sang ne se rassemble au fond, ce qui rendrait difficile la lecture des cultures. On doit mêler à fond le sang et le milieu de culture.

L'ouverture des tubes est stérilisée par flambage et, une fois le sang mélangé, s'il s'agit d'agar-agar, leur contenu est versé dans une boîte de Petri. Après 8 à 24 heures, lecture macro- et microscopique des cultures.

Résultats : lorsqu'un grand nombre de colonies semblables existent dans toutes les boîtes, on n'a aucun doute quant à la signification étiologique de l'hémoculture. Si par contre, on obtient deux espèces différentes, une seule est en général responsable de la

maladie, et si une des deux est un staphylocoque, penser à une souillure accidentelle de la culture. Il peut en être de même avec un streptocoque non hémolytique et même avec streptococcus viridans (en cas de souillure par des gouttelettes de salive venant de l'opérateur).

En tout cas, on ne conclura pas à l'absence de germes sans avoir maintenu durant cinq à six jours la culture à l'étuve, certains germes, tel strepto viridans, ayant un développement tardif.

D'autre part, on peut diluer le sang avec trois parties de solution de silicate de Na à 1°/oo.

L'interprétation des résultats est autant que possible, laissée au clinicien. Faut-il conclure de la négativité de l'hémoculture à l'absence de septicémie ? Certes non, répond Lenhartz : "lorsque en dépit de recherches soigneuses et répétées des germes dans le sang les hémocultures restent négatives, on ne doit pas rejeter le diagnostic de septicémie quand le début et l'évolution de celle-ci ne laissent pas de doute".

Au cours de presque toutes les maladies septiques, les germes pathogènes passent dans le sang, mais si la résistance de l'organisme et le pouvoir bactéricide du sang sont intacts, leur destruction sera opérée de façon telle qu'on ne pourra les mettre en évidence dans les 20 cm³ de sang prélevés.

A quelques détails près, l'histoire de l'hémoculture aérobie pourrait s'arrêter ici. La presque totalité des détails de technique décrits par Lenhartz peuvent être mis

en parallèle avec la méthode de l'hémoculture telle qu'on la pratique en 1958, sans que beaucoup de termes soient changés. Les traités de médecine ou de microbiologie pratique, tant en France qu'à l'étranger, ont fait leurs méthodes de Lemierre ou de Lenhartz. En 1911, Jochmann (*Handbuch der inneren Medizin*) décrit exactement la technique de Lenhartz, mais semble considérer comme suffisante la désinfection à l'éther seul de la peau du sujet. Il insiste sur une dilution suffisante du sang (pouvoir bactéricide) et recommande surtout comme milieu l'agar-agar plutôt que le bouillon, car les colonies sont plus aisément repérables.

En 1914, Schottmüller définit la "Sepsis", équivalent de la septicémie des auteurs français, dans les termes suivants :

"Il y a septicémie lorsqu'à l'intérieur du corps un foyer s'est formé, d'où partent, constamment ou de façon périodique, des bactéries pathogènes dans la circulation sanguine, et ce de façon à provoquer par cette invasion des phénomènes morbides tant subjectifs qu'objectifs". Mais sur plus de 10.000 examens bactériologiques, il n'a pu trouver un nombre suffisant de germes à chaque fois, pour affirmer que la septicémie répond à une pullulation de germes dans le sang, en quelque sorte, à une "culture in vivo".

Deux auteurs allemands, vers la même date, Friedemann et Leschke, ont en matière d'hémoculture une idée particulièrement originale (reprise en 1934 par Liebermeister). Selon eux, la mise en évidence des bactéries dans le sang d'une veine du bras (comme on le fait systématiquement) ne peut donner

qu'une mauvaise idée du passage des germes dans la circulation, car, disent-ils, suivant la position du foyer le sang a été "filtré" une ou plusieurs fois (à l'exception bien entendu de l'extrémité distale du membre en question). Il serait donc préférable, par exemple, de prélever le sang d'une artère quand le foyer est pulmonaire. Un foyer de la région céphalique demande un prélèvement dans la veine jugulaire, et une ponction de la "veine crurale" est souhaitable dans un foyer du membre inférieur.

L'opinion couramment admise en France vers 1920, en ce qui concerne la technique et le rôle de l'hémoculture, nous est donnée par les ouvrages de microbiologie clinique ou de techniques courantes de laboratoire. L'hémoculture est maintenant presque "vulgarisée", pourrait-on dire. Agasse Lafont, par exemple, considère que "l'hémoculture c'est-à-dire la recherche des microbes dans le sang par ensemencement en milieu de culture, est au nombre des techniques les plus importantes, aussi bien du point de vue du diagnostic, que des recherches destinées à découvrir la pathogénie de certaines affections... Un avantage de cette méthode, c'est qu'elle fait porter les recherches sur un point de l'organisme dans lequel le microbe qui est en jeu se trouve presque toujours à l'état de pureté".

Un détail, dans le même chapitre, retient notre attention. Jusqu'à présent, les tégu-
ments du malade, que ce soit le doigt, le lobule de l'oreille ou le pli du coude, étaient généralement désinfectés de la façon suivante : savonnage soigneux de l'endroit intéressé, puis désinfection avec alcool, sublimé, éther (simultanément ou successivement). Or ici nous voyons recommandé

le procédé qui prévaudra jusqu'à maintenant: la désinfection des téguments sera faite par application de teinture d'iode au 1/10e, cinq minutes avant la ponction. Le risque de souillure par contact de l'aiguille avec la peau du sujet se réduit à fort peu de chose.

On peut remarquer, aussi bien dans cet ouvrage que dans le "Précis de Microbiologie clinique" de F. Besançon, une condamnation sans appel de la piqure du doigt comme mode de prélèvement, pour les raisons vues plus haut. Le simple fait de cette insistance montre que - même en 1920 - ou du moins peu de temps avant, ce procédé devait être considéré par quelques uns comme acceptable.

A la lumière des résultats obtenus dans toutes les hémocultures faites auparavant, que sont devenues, après 1920, les notions de bactériémie et de septicémie. Un avis particulièrement autorisé sur cette question nous est donné par MM. Gastinel et Reilly dans un rapport au Congrès de Médecine de 1927.

Il faut distinguer, disent-ils, les notions de bactériémie (présence de germes dans le sang - décelables à l'examen direct ou à la culture), et celle de septicémie qui a une traduction avant tout clinique. Une septicémie représente une atteinte grave de l'état général, des signes d'imprégnation toxique, s'accompagnant de la présence dans le sang de germes vivants. Pour étudier le passage et l'existence de ces germes, il faudrait procéder à des hémocultures en série. En règle générale, il n'y a pas de pullulation des germes dans le sang, sauf dans un état préagonique, mais des décharges

bactériennes continues ou intermittentes. La septicémie, dans son sens le plus exact, représenterait une forme extrême de l'infection, où l'insuffisance, voire la sidération totale des réactions de défense de l'organisme, permet la multiplication sans obstacle des germes.

Le simple fait d'une hémoculture positive ne permet absolument pas de trancher entre septicémie vraie et bactériémie transitoire, d'où la grande importance des signes cliniques aux différents stades de l'évolution.

Il peut n'y avoir aucune coïncidence entre les poussées thermiques avec frissons et une bactériémie décelable par hémoculture, une décharge de substances protéiques toxiques pouvant être responsable de cette symptomatologie.

Quant à la valeur pronostique de l'hémoculture, elle est très relative, et pourrait se baser sur :

la numération des germes dans le sang (nombre de cultures formées par unité de volume de sang ensemencé) ;

l'appréciation de la virulence du germe, de l'absence de pouvoir germicide du sang ; (travaux de Philipp, 1923 et de Lehmann, 1924)

mais un parallélisme étroit entre résultats fournis par l'hémoculture et évolution clinique est bien rare.

La valeur diagnostique de l'hémoculture repose sur les points suivants :

- si le tableau clinique est de façon certaine celui d'une septicémie, une hémoculture

positive, ce qui est habituellement le cas, corrobore le diagnostic, une hémoculture négative ne peut suffire à l'infirmier.

- Si le tableau clinique se limite à un ou partie des symptômes, et qu'aucun foyer infectieux ne soit cliniquement décelable, l'hémoculture présente un grand intérêt sur les plans du diagnostic et du pronostic.

En aucun cas, la négativité de l'hémoculture ne permettra d'affirmer qu'il n'y a pas eu de germes dans le sang, soit que l'on se trouve dans l'intervalle des poussées de bactériémie, soit que le petit nombre de germes, étant donné le pouvoir bactéricide du sang, ait été responsable de la négativité du prélèvement.

Depuis le jour de la découverte de la bactériémie charbonneuse dans le sang, et de sa pullulation sanguine au cours du charbon expérimental, les idées ont évolué.

On a considéré, à l'époque, que la septicémie était le résultat d'une infection sanguine à proprement parler.

Puis est arrivée la distinction entre :

bactériémie - ou simple passage d'un germe dans le sang
septicémie - ou pullulation des germes dans le milieu plasmatique.

Ce n'est plus, en 1927, la conception que l'on a de la septicémie. Il y a bactériémie ou "microbémie" lorsqu'à partir d'un foyer initial, on peut noter la présence de germes dans le sang, de façon éphémère, mais pouvant être responsable de la création d'un foyer à distance.

Il y a septicémie quand on se trouve en présence d'une affection bactérienne généralisée, qui évolue en laissant cliniquement au deuxième plan le foyer initial responsable.

Dans les deux cas on pourra constater à l'hémoculture la présence de germes dans le sang, mais ce fait à lui seul est insuffisant pour pouvoir dire qu'il s'agit de l'une ou de l'autre : seule l'investigation clinique permet en dernier ressort de poser le diagnostic de septicémie.

L'HEMOCULTURE ANAEROBIE APRES LOUIS PASTEUR

-:-

Dès 1870, Pasteur observe que certains germes, obtenus à partir du sang de malades, ne peuvent se cultiver dans les milieux ordinaires, bouillon Liebig par exemple, lorsque ces milieux sont conservés à l'air. "La stérilité d'un liquide de culture", écrit-il, "peut tenir à la présence de l'air, non à sa constitution propre... Dans ce dernier cas, aussitôt après avoir ensemenché le sang ou l'humeur que l'on veut éprouver, il faut faire le vide dans les tubes, les fermer à la lampe et les abandonner à une température convenable".

Dès lors, on pourrait logiquement s'attendre à un développement parallèle de l'hémoculture en aérobie et en anaérobie. Si les premières méthodes pratiques de culture anaérobie sont inventées dès la fin du XIXème siècle, ou, en tout cas, avant 1910, ce n'est guère qu'en 1920 que leur utilisation deviendra systématique. Un écart d'au moins 20 ans peut être constaté entre les premières cultures aérobies et les premières cultures anaérobies, si l'on excepte Pasteur, puis, après quelques tentatives plus ou moins fructueuses, et en tout cas non systématiques, les méthodes tomberont dans un demi-oubli jusqu'à la première guerre mondiale.

Un des premiers procédés est celui de Liborius, en 1886, employant des tubes à essai d'au moins 22 cm de long, pour 15 mm de diamètre. Ces tubes sont à moitié remplis de gélose sucrée, la hauteur de la colonne assurant des conditions plus ou moins anaérobies.

Pour la première fois, en 1895, Lenhartz signale le bacillus perfringens comme agent responsable d'une septicémie.

Les noms d'Achalme et de Thiroloix reviennent, en 1897, à propos d'endocardites rhumatismales. "Nous avons, écrit Achalme, en collaboration avec M. Rosenthal, interne du service, méthodiquement ensemencé en milieu anaérobie du sang du coeur et du liquide céphalo-rachidien". Il emploie pour cela le procédé de Liborius. La même année, Thiroloix isole du sang d'une série de rhumatisants le même germe, par ensemencement anaérobie dans des tubes de lait.

En 1899, Pic et Lesieur obtiennent le même résultat avec le sang d'un malade atteint de "rhumatisme cérébral".

Gwyn, à la même époque, signale dans le bulletin du John Hopkins Hospital que lors d'une chorée grave fébrile "l'ensemencement de 30 à 50 cm³ de sang pratiqué en anaérobie dans des tubes de lait et de bouillon avec lait, la première fois 13 jours avant la mort, et répété plusieurs fois donna constamment le bacillus aerogenes".

Une autre observation relative à ce germe a pour auteur Rufus Coles, qui travaille dans le même hôpital. Cette fois nous sommes en présence d'une gangrène post-traumatique de la jambe : sept cm³ de sang préle-

vés au pli du coude la veille de la mort et ensemencés en anaérobie dans des tubes de lait donnèrent dans tous les tubes le *Bacillus aerogenes* (1902)

Mais, à peu près simultanément, deux auteurs, *Schottmüller* en Allemagne et *Veillon* en France vont mettre à la portée des microbiologistes des méthodes de cultures anaérobies nouvelles, bien supérieures à la culture sur lait...

Le rôle pathogène des anaérobies stricts, au cours de diverses affections est mis très tôt en évidence par *Schottmüller* et son équipe, au cours d'affections très diverses, comme la fièvre puerpérale, les pyléphlébites, la gangrène pulmonaire, les thrombophlébites. En 1896, il démontre le rôle important des streptocoques anaérobies, la gravité de leur présence dans le sang, et, ainsi que *Krönig* la nécessité de techniques spéciales pour leur culture.

La première méthode inventée par *Schottmüller* utilise, pour absorber l'oxygène de la boîte où est faite la culture, une solution de pyrogallol qui imbibe une couche d'ouate. On évite par un artifice de construction le contact direct de la solution réductrice avec le milieu de culture. Le récipient est hermétiquement fermé à la plastiline.

Une variante de cette méthode peut lui être préférée : on prend une boîte de Pétri. Une des moitiés reçoit de la gélose ordinaire ou de la gélose au sang et un ensemencement est fait avec divers germes anaérobies facultatifs, de souche connue, *bacillus prodigiosus* ou *bacterium coli* par exemple. L'autre moitié reçoit la gélose mêlée au sang du malade. Bien entendu, tout contact entre les

deux milieux doit être évité. On ferme comme précédemment avec un anneau de plastiline. Le premier germe absorbe par sa croissance tout l'oxygène de la boîte et les anaérobies stricts, s'il s'en trouve dans le sang, peuvent alors se développer.

La technique de Lentz a aussi son intérêt : un anneau de feutre est imprégné de solution pyrogallique, cet anneau doit avoir exactement le diamètre d'une boîte de Pétri. On le place sur un verre propre sur lequel est versée une solution potassique à 1 %; puis la demi-boîte contenant l'agar avec le sang du malade est renversée, après prise de l'agar, sur le verre portant l'anneau de feutre, et fixée à la plastiline pour assurer l'étanchéité de l'ensemble.

Mais un deuxième procédé de Schottmüller va connaître un plus grand succès que les précédents. C'est le procédé du cylindre : il permet la culture en une seule fois et dans un seul tube de 20 cm³ de sang si besoin.

Il faut avoir un grand tube cylindrique en verre, long de 30 cm, large de 5 cm environ que l'on remplit entièrement de gélose glucosée liquéfiée par chauffage modéré. Les 20 cm³ de sang sont ajoutés, intimement mêlés par agitation répétée, puis on introduit une tige métallique stérile dans le tube, le long de sa paroi. L'ensemble est fermé hermétiquement et porté dans l'eau froide pour prise rapide du milieu. Après attente convenable, il est aisé de retirer en entier le boudin de gélose, et on peut le couper en "rondelles" de 2 à 3 cm d'épaisseur, ce qui permet d'observer et de repiquer les colonies. Mention est

faite de cette technique aussi bien en France qu'en Allemagne, et de longues années après elle est toujours employée.

La méthode recommandée en France par Veillon, et ce semble-t-il dès 1898, car Achalme la signale à cette date, mérite une description détaillée. Lemierre l'utilise à plusieurs reprises au tout début du siècle, concurremment avec d'autres méthodes. "On peut", dit-il, "avoir l'occasion de rechercher les microbes anaérobies dans le sang : nous avons utilisé plusieurs fois à cet usage les tubes de gélose glucosée profonde de Veillon ; on peut aussi employer les milieux liquides, bouillon, lait, etc... en ballons ou en tubes." Rufus Coles, déjà cité, se sert également des mêmes tubes : mais les germes n'y poussent pas alors que l'hémoculture en tubes de lait réussit.

Voici la technique de Veillon. Une excellente description en est faite par MM. Teissier et Reilly, sa mise au point remontant déjà à plusieurs années : "Dans deux longs tubes de verre de 25 cm sur 25 mm de diamètre on introduit 8 cc de gélose Veillon (agar peptone glucose et bouillon de viande macérée) et 60 cc de bouillon peptone ordinaire additionné de 2 cm³ d'une solution de glucose à 20 %. Ainsi préparés, les tubes sont portés au bain-marie bouillant pendant 20 à 30 minutes pour éliminer tout l'air dissous, puis maintenus jusqu'à l'ensemencement à la température de 40° dans un bain d'eau tiède. Le sang prélevé par ponction veineuse est projeté dans les tubes à raison de 2 cc pour le premier, 3 à 4 cc pour le second. Ceux-ci sont alors plongés dans l'eau froide et leur contenu se prend en une masse gélifiée à peine

consistante, mais qui suffit cependant à intercepter tout courant et, partant, toute pénétration d'air dans les couches profondes. Cette technique convient parfaitement aux anaérobies les plus exigeants et permet d'évaluer approximativement le nombre de germes contenus dans le sang... Son seul inconvénient est l'accumulation inévitable du sang dans le fond des tubes, ce qui rend difficile l'appréciation du nombre des colonies dans les couches inférieures. Il est possible d'y remédier en ne pratiquant l'ensemencement qu'au moment où le milieu, suffisamment refroidi, prend une consistance légèrement sirupeuse, et en maintenant le tube dans une position inclinée sous un robinet d'eau froide. Dans ces conditions le sang se répartit presque uniformément dans toute la masse du milieu..

En général, c'est du deuxième au quatrième jour que les colonies font leur apparition. Il ne reste plus, pour les identifier, qu'à les repiquer sur milieux solide et liquide suivant les techniques usuelles."

Malgré ces nombreux procédés, peu d'auteurs prennent la peine de faire en parallèle ensemencements aérobie et anaérobie.

Gilbert et Lippmann, en 1906, obtiennent le *Bacillus Ramosus* dans un cas de gangrène sénile. Guillemot, 12 h avant la mort de son malade, trouve *Bacillus fragilis*. Le *Perfringens* a pu être cultivé au cours d'affections à germes bien différents, typhoïdes par exemple. C'est le cas des résultats d'Achalme (1902), de Garnier et de Simon en 1907.

En 1911, est publiée l'observation d'un cas d'ictère grave d'origine hémolytique

dû au bacillus perfringens" : observation rapportée par Widal, Lemierre, Abrami et Kindberg.

Le 26 août 1910, entre à l'Hôpital une jeune femme de 23 ans, en très mauvais état général. Elle était auparavant enceinte de 3 mois. Dès l'entrée : frissons, céphalées, métrorragies, et état typho-adyynamique. On est déjà frappé par un subictère. Le lendemain, ictère intense généralisé, avec fièvre à $41^{\circ}5$, chute tensionnelle, tупhos et anurie presque totale. Après passage dans le coma, elle meurt la nuit suivante. Urines et liquide céphalorachidien contiennent de l'hémoglobine.

Du vivant de la malade "20 cm³ de sang ont été pris à la veine du coude et ensemencés dans 500 grammes d'eau peptonée en culture anaérobie sans aucun résultat. Le lendemain, 5 cm³ de sang veineux sont ensemencés en gélose fondue suivant le procédé de Nicolle. Au bout de 48 heures, le milieu est parsemé de nombreuses colonies punctiformes à peine visibles, formées de gros bacilles Gram +. Ces germes sont anaérobies stricts et se développent très aisément dans tous les milieux privés d'air."

Le germe ainsi isolé du sang de la malade est cultivé sur gélose au sang et ajouté à des émulsions d'hématies humaines. On constate une hémolyse extrêmement rapide.

Avant la guerre de 1914, nous relevons encore quelques observations isolées. Larsen et Barron, en 1913, rapportent un cas de septicémie dont le point de départ était une infection dentaire. La culture du sang permit l'isolement du bacillus fusiformis.

Mais comme le fait remarquer Vaucher, la guerre voit augmenter en proportion considérable le nombre des gangrènes gazeuses à la suite de blessures, et les travaux sur ce sujet se multiplient après 1915. Nous pouvons citer les noms de Levy, Cotte et Latarjet en 1915, et la même année des séries d'observations de Stockes (6 hémocultures positives à perfringens et 3 cas de gangrène gazeuse), de Pribram, qui fait de nombreuses cultures quelques heures avant la mort des malades.

Klose, sur 80 prélèvements, obtient 48 hémocultures positives durant la vie, dont les germes dominants sont B. oedematiens et putrificus. En inoculant ces cultures au cobaye, il observe que leur sang carotidien contient de nombreux germes 3 heures après l'injection.

Un tableau réalisé par Weinberg et Seguin en 1918 fait état de 29 cas de gangrène gazeuse, tous mortels, dont 23 ont fait l'objet d'hémocultures. Les germes les plus fréquents sont les B. oedematiens, perfringens et le vibron septique. Ils correspondent au deuxième groupe d'anaérobies selon Veillon, c'est-à-dire aux germes d'origine tellurique, résistant et se développant aisément. Le même microbe se retrouve dans le foyer de culture. Il s'agit en général d'une simple bactériémie, d'où nécessité d'ensemencer largement. Parfois plusieurs germes coexistent dans le foyer : le plus pathogène passe alors dans le sang. Ces germes, remarque Vaucher, ne pullulent pas dans le sang, et réalisent rarement une septicémie, mais sont simplement véhiculés à certains moments dans la circulation, ce qui rend leur recherche plus difficile.

Les septicémies anaérobies à point de départ utérin, et souvent dues au perfringens sont souvent rapportées (Lemierre, Widal, Bingold, Schottmüller). Mais là aussi, on peut ne voir que des septicémies transitoires. Enfin le point de départ peut être dentaire ou otitique.

Si maintenant, nous ouvrons un traité de médecine de 1920 ou 1922, il semble que l'intérêt de l'hémoculture anaérobie ne paraît guère évident à ses auteurs. Veillon signale bien que les anaérobies "peuvent être véhiculés par le liquide sanguin comme le prouvent les lésions métastatiques et les hémocultures positives quand l'ensemencement a été abondant", mais semble s'appuyer uniquement pour le diagnostic sur l'aspect et l'odeur des lésions, le faciès et les signes généraux. Cette impression est confirmée dans le chapitre sur les septicémies écrit par Sacquépée pour le même traité, deux ans plus tard.

Connaissant par ailleurs la part prépondérante qu'a prise Veillon dans l'étude des maladies à anaérobies, on s'étonne d'autant plus de ne trouver dans son exposé didactique sur ces septicémies qu'une mention bien rapide de l'hémoculture comme moyen de diagnostic.

Ses contemporains ne semblent guère au courant de sa méthode de culture du sang, et n'attachent que peu d'intérêt à l'hémoculture comme moyen de diagnostic des septicémies anaérobies.

C'est bien en tout cas l'opinion de Boëz à Strasbourg, qui écrit en Novembre 1924,

parlant des septicémies à anaérobies : "Ces dernières sont connues par les travaux de Veillon, Weinberg, et d'autres... mais passent encore souvent inaperçues par suite de l'insuffisance des méthodes employées. Ceci l'amène à inventer un "dispositif pour l'hémoculture anaérobie en milieu solide."

Le sang du malade est mélangé à une quantité donnée de gélose et l'ensemble doit être coulé entre deux surfaces de verre de façon à obtenir une couche mince permettant le repérage et le décompte des colonies. L'auteur emploie deux cuvettes bombées, le fond concave de l'une portant des nervures qui limitent un espace entre lui et le couvercle convexe. Le sang est prélevé par ponction veineuse, recueilli sur citrate dans un tube à essai et hémolysé dans l'eau distillée stérile pour que le milieu demeure transparent. Il est alors transvasé dans un ballon de gélose à 45° à la pipette. On mélange par rotation, puis, après flambage du col du ballon, on introduit la gélose au sang dans la boîte. Elle forme un disque régulier entre les deux cuvettes. Quand la gélose a fait prise, on remplit l'interstice circulaire libre entre les deux verres avec un mélange paraffine + vaseline de façon à encercler la gélose.

Les colonies apparaissent le plus souvent après 24 heures d'étuve. En décollant le verre supérieur, il devient possible de prélever les colonies isolées à la pipette et d'ensemencer sur gélose au sang et en tubes de Veillon (repiquage). Il peut être nécessaire de prolonger l'observation pendant trois semaines, en raison du développement particulièrement lent de certains germes. Le milieu garde une teinte rouge franc au centre, et devient jaune sur les bords.

Cette méthode permet la numération des germes. Les colonies par leur abondance tranchent avec les germes de souillure. Elle constitue donc un moyen universel d'hémoculture convenant aux anaérobies stricts comme aux aérobies facultatifs : telle est la conclusion de Boëz.

Quels résultats a donné cette méthode dans les mains de son auteur : un certain nombre d'observations et de cas publiés répondent à cette question.

Une première est rapportée en Décembre 1924 par Boëz et Keller. Elle est intéressante "en ce qu'elle fait ressortir l'avantage de l'hémoculture anaérobie en milieu solide, qui a permis dans le cas particulier de préciser l'étiologie d'une septicémie qui n'avait pu être déterminée par la méthode utilisée pour la culture du sang".

Une femme de 28 ans, enceinte de 9 mois, entre à l'hôpital dans un état fébrile ; aucun signe de vie foetale, la poche des eaux est rompue. Elle expulse deux jours après l'hospitalisation un enfant mort à terme. Le liquide amniotique est très fétide. Le soir, sa température s'élève à 40°, avec frissons. Une hémoculture en bouillon reste stérile. Frissons et clochers thermiques persistent durant 9 jours, au cours desquels une 2ème hémoculture sur bouillon reste négative. Une 3ème par contre, en milieu solide sous conditions anaérobies permet d'isoler en 48 heures un germe anaérobie, le micrococcus foetidus de Veillon. Ultérieurement, des cultures sont faites facilement en milieux liquides additionnés de substances réductrices diverses, ou en bouillon sous couche de vaseline. La malade guérit quelques semaines plus tard.

En conclusion, "il est intéressant de constater qu'au cours de cette septicémie deux hémocultures en bouillon pratiquées successivement ont été négatives... Nous avons dû incriminer l'insuffisance des méthodes d'hémoculture employées et recourir à une technique susceptible de déceler les anaérobies... technique en milieu solide préconisée par l'un de nous."

A la même date, Boëz et Holtzmann rapportent un cas de septicémie d'allure subaiguë chez une femme de 33 ans, sans antécédents connus. Un mois et demi après son hospitalisation, "on isole du sang par hémoculture anaérobie en milieu solide huit colonies de bacillus ramosus pour 10 cc de sang ensemencé". Voici une preuve de plus en faveur de l'efficacité de cette méthode. Elle serait "susceptible de préciser l'étiologie de bon nombre de septicémies dites cryptogénétiques qui ne font pas leurs preuves par les méthodes habituelles d'hémoculture."

Enfin, une troisième observation est rapportée l'année suivante par Ml. Vaucher, Boëz, Lanzenberg, et Mme Kehlstadt.

Une femme de 29 ans, n'ayant aucun antécédent pathologique notable est hospitalisée au mois de mai, après un accouchement survenu en mars. Elle présente une fièvre à 39°6, un herpès nasal, et il apparaît bientôt une angine, puis des plaques rouges sur les téguments des membres inférieurs. Les lésions rappellent l'érythème noueux. "On procède immédiatement aux recherches suivantes : prélèvement de frottis de la gorge, hémoculture en aérobies et anaérobies, séro-diagnostic... L'hémoculture en aérobie est stérile, mais en anaérobie on trouve des bacilles Gram + :

soit pour 10 cc de sang ensemencés une centaine de colonies en 48 heures."

On repique sur gélose au sang et tubes de Veillon : cultures seulement dans ce dernier milieu.

Les spores se forment en abondance dans le bouillon ordinaire dont l'anaérobiose est assurée par une couche de vaseline de 1 cm de haut et par une légère multiplication préalable de bacille coli, le milieu étant stérilisé à l'autoclave dès l'apparition d'un léger trouble. Cette technique a été décrite par Gates et Olitsky en 1921.

On note également un développement en 24 heures à la surface de la gélose ordinaire en atmosphère anaérobie dans le "bocal anaérotique" de Mac Intosh.

Il faut ajouter que "la présence d'anaérobies dans le sang n'implique pas toujours un pronostic particulièrement sévère, d'autant qu'il s'agit souvent d'une bactériémie très discrète."

Au total, sur 42 germes isolés au cours de diverses septicémies, 4 étaient des anaérobies, à savoir : micrococcus foetidus, bacillus ramosus, et deux streptocoques anaérobies. Selon Boëz, le streptococcus viridans des endocardites subaiguës s'isole mieux en conditions de culture anaérobie. Cette méthode convient également à de nombreux aérobies, tels les staphylocoques et streptocoques, pneumocoques, coli, proteus, bacille typhique... qui sont anaérobies facultatifs.

Lemierre et Deschamps, pour leur part, recherchent les streptocoques anaérobies

dans le sang par la méthode de Schottmüller ou celle de Veillon. Ils considèrent que pour affirmer le caractère anaérobie du germe il faut vérifier que repiqué sur milieu aérobie normal, il ne pousse absolument pas. D'autre part, même en combinant les méthodes de culture, on peut n'obtenir que des résultats négatifs, alors que l'autopsie fait la preuve d'une streptococcémie. Ils citent le cas d'une septicémie chez une jeune femme, chez qui toutes les hémocultures étaient négatives, et qui à l'autopsie présentait une endocardite végétante et des signes indiscutables de septicémie. Il faut savoir, en pareil cas, répéter les examens.

Vaucher et Woringer emploient de pair, pour leurs hémocultures en milieux anaérobies, des milieux liquides et des milieux solides.

Ils recommandent l'utilisation de longs tubes à essai, contenant une grande quantité de milieu, et portés 30 minutes à l'ébullition avant ensemencement. Le milieu est soit du bouillon Martin glucosé, soit du lait (*perfringens*, *sporogenes*, *putrificus*)

soit un milieu à la viande (cœur de boeuf haché dans l'eau). Il reçoit 1 ou 2 cm³ de sang, et on fait le vide dès ensemencement.

Comme milieu solide, on peut employer la gélose de Veillon, avec 1 cm³ de sang seulement. Le sang prélevé par ponction veineuse est recueilli dans un tube à essai avec 1 cm³ pour 10 de citrate de Na et hémolysé en ajoutant 20 cm³ d'eau distillée. On le transvase alors à la pipette dans le ballon de gélose fondue, maintenue au bain-marie à 45°. On mêle sang et gélose, et on verse dans une boîte de Petri dont les interstices

sont ensuite obturés à la paraffine. Il peut ensuite être nécessaire de repiquer sur divers milieux pour identifier les germes.

Eux aussi concluent à la nécessité de pratiquer systématiquement ce mode de culture. Ils notent, par ailleurs, qu'au cours de nombreuses affections intestinales, "des hémocultures anaérobies mettent en évidence des germes qui ne doivent souvent être considérés que comme des microbes de sortie".

Il ne faudrait pas conclure de ces quelques observations qu'hémocultures aérobies et anaérobies, dès 1925, sont pratiquées de pair et avec une fréquence égale. La plupart des auteurs, comme le fait remarquer V. de Lavergne, en 1927, se contentent de méthodes aérobies classiques lorsqu'ils se trouvent devant un état infectieux sévère, mais ne font qu'occasionnellement, et encore pas tous, des cultures en milieu privé d'air. Le résultat est un défaut manifeste de standardisation des méthodes et un nombre restreint d'observations concernant les affections humaines liées à ces germes. La même opinion est exprimée par Teissier et Reilly en 1931. Ils disent en effet :

"Malheureusement, l'hémoculture en milieu anaérobie est un procédé de recherche encore peu entré dans la pratique courante. D'ordinaire, quand on y a recours, c'est en face d'un état infectieux lié à l'existence d'un foyer putride, d'est-à-dire précisément d'un cas où les renseignements que peut fournir cette technique sont d'intérêt secondaire."

En cinq ans, dans le même hôpital, ils

relèvent quatre cas de septicémies à *Funduliformis*. Les quatre observations citées concernent :

- la première un homme de 38 ans, en parfaite santé jusque là, chez qui se développent brutalement des signes généraux graves, un ictère et des éléments vésico-pustuleux sur les téguments. Il meurt le 7ème jour de l'hospitalisation. Une hémoculture faite de son vivant est négative en milieu normal, et positive en gélose demi-molle anaérobie.

- les trois derniers cas, des formes à évolution beaucoup plus lente : une septicémie post-angineuse avec pleuropneumonie et manifestations articulaires, puis hépatiques, et pour les deux derniers, une forme à évolution lente (5 semaines) avec bactériémie d'accompagnement au début seulement, et une atteinte à nombreuses manifestations pyohémiques, mais où la culture du sang fut négative.

D'autre part, il faut noter qu'un germe anaérobie peut se développer, quoique avec un retard considérable, dans un milieu aérobie (peptone au sang par exemple). "Le fait donc qu'une hémoculture pratiquée selon la technique ordinaire donne lieu après 8/10 jours au développement d'un germe ne permet nullement de conclure à une infection par un microbe aérobie."

Teissier et Reilly insistent sur le fait que "la complexité des méthodes utilisées pour l'ensemencement du sang en milieu anaérobie a trop souvent jusqu'ici éloigné les médecins d'une recherche désormais indispensable."

En milieu solide, ils recommandent de suivre la méthode de Veillon. Nous n'y reviendrons pas, l'ayant longuement citée précédemment.

"Pour ce qui concerne l'ensemencement liquide", écrivent-ils, "nous avons renoncé aux méthodes compliquées reposant sur l'emploi du gaz d'éclairage ou sur le vide à la trompe; elles sont délicates, exposent à de nombreux échecs et n'offrent aucun avantage. Le dispositif suivant permet sans difficulté d'obtenir le résultat désiré : un tube à pipette, long de 30 cm, en verre assez épais, est fermé au chalumeau puis renflé en une boule de 20 à 30 cm³ de capacité. Le petit ballon à très long col ainsi réalisé est rempli du milieu liquide jusqu'aux trois-quarts de sa hauteur, purgé d'air par ébullition de 20 minutes au bain-marie, puis refroidi brusquement... Il est alors ensemencé dans le fond à l'aide d'une pipette à longue effilure... Les conditions d'anaérobiose demeurent parfaites durant plusieurs jours dans la boule inférieure où on voit se développer une culture luxuriantte".

En conclusion, il faudra attendre quelques années pour que le microbiologiste utilise avec autant de facilité et de sécurité l'hémoculture anaérobie que la culture aérobie. Le retard que nous avons signalé auparavant n'est pas encore comblé après 1930, fait d'autant plus curieux que l'une et l'autre méthodes avaient été décrites et expérimentées simultanément par Pasteur. Des techniques précises, nous l'avons vu, voient le jour avant 1900, mais leur emploi durant plus de 30 ans semble un peu livré au hasard ou à des initiatives individuelles.

La technique de base, c'est-à-dire le prélèvement, est identique pour les deux méthodes, mais les conditions de culture compliquent sérieusement la situation dans un des cas. La question du milieu de culture en aérobie ne semble pas avoir soulevé de discussion:

les milieux essentiels (bouillon, gélose) furent très vite à la portée de tous les microbiologistes, et leur emploi ne présente pas de difficulté. Le fait même que de nombreuses méthodes de culture en anaérobie aient été proposées vient de ce que chacune a présenté des inconvénients ou rencontré des obstacles dans son utilisation. C'est une fois de plus l'occasion de souligner l'importance de l'outil et de la technique, face à une conception, simple en théorie, d'un problème.

Nous ne quitterons pas ce sujet sans parler, brièvement, d'une méthode très particulière de culture du sang, spécialement intéressante en milieu anaérobie, la microleucocytoculture, qui a été imaginée en 1928 par N. Fiessinger et R. Cattani, et dont ce dernier a fait le sujet de sa thèse.

Une ponction veineuse permet de recueillir 2 à 5 cc de sang, ce qui suffit en général, avec les précautions d'asepsie habituelles. Ce sang est placé dans un tube à centrifuger ordinaire, stérile, dans lequel avant stérilisation ont été introduites 4 à 5 gouttes de citrate de Na à 30 % (quantité maxima). Le tube est bouché et agité, puis centrifugé à allure modérée : sans excès pour ne pas désagréger les leucocytes, suffisamment pour obtenir un plasma parfaitement clair. Entre le culot de globules rouges et le plasma s'observe un "mince tapis blanchâtre" constitué par les leucocytes et les plaquettes. Cette couche est prélevée par aspiration à la pipette, en évitant d'entraîner trop de globules rouges ou de plasma. Les leucocytes sont alors introduits dans un milieu de culture qui peut être n'importe quel milieu

solide ou liquide. Il faut particulièrement insister sur l'intérêt que présente l'ensemencement en tubes de gélose Veillon.

La lecture des cultures est très facile :

en milieu liquide, les leucocytes se déposent au fond du tube et le milieu ne se trouble que si des germes s'y multiplient ;

en milieu solide aérobie, on note peu de bons résultats.

Tout au contraire, la microleucocytoculture anaérobie sur gélose Veillon est aisée : une parcelle du "tapis leucocytaire" est introduite dans le tube de gélose fondue, ramenée à 45°, puis on homogénéise par agitation. L'absence de globules rouges facilite beaucoup la lecture.

Les souillures seraient moins nombreuses qu'avec la boîte de Boëz. Il n'est pas nécessaire de couper la gélose en tranche, comme pour le tube de Schottmüller : il suffit en effet de prélever les colonies à la pipette pour les repiquer ensuite.

De cette manière, plus de 300 microleucocytocultures ont été pratiquées. En général 20 cc de sang étaient prélevés en une seule ponction, 15 servaient à l'hémoculture normale, cinq à la microleucocytoculture. 89 résultats positifs sont relevés : ils comprennent entre autres :

24 typhoïdes

12 paratyphoïdes A et B

2 colibacillémies

16 endocardites à streptocoques

4 érysypèles.

12 microleucocytocultures sont positives alors que l'hémoculture est négative.

Dans 10 cas, les résultats sont plus précoces qu'avec l'hémoculture.

A la suite de ces observations, Cattani souligne les avantages indiscutables de sa méthode : au cours d'endocardites malignes, la microleucocytoculture a été positive jusqu'à 8 jours avant l'hémoculture. Les prélèvements en ville sont remarquablement simplifiés. Il suffit de se munir d'une seringue stérile de 5 cc, d'un tube à centrifuger stérile contenant quelques gouttes de citrate. Le prélèvement est peu important, et l'ensemencement peut n'être fait qu'une ou deux heures après le prélèvement.

Quelques échecs ont pu être notés : à 7 reprises, la microleucocytoculture était négative, l'hémoculture positive, Il s'agissait, sans doute, remarque l'auteur, de fautes de technique dans les débuts, par excès de citrate de Na et prélèvement insuffisant.

Il faut bien reconnaître que la méthode n'a apporté aucun élément nouveau en ce qui concerne les maladies infectieuses à germes encore inconnus.

Les souillures sont tout à fait exceptionnelles.

Basée sur une hypothèse, le transport intra-leucocytaire des bactéries, cette méthode offre en pratique certains avantages, et en particulier celui d'éliminer le pouvoir bactéricide du sang. Ce dernier avait été reconnu par d'autres auteurs qui avaient recommandé des méthodes spéciales pour le neutraliser. Ranque et Senez, en 1911, avaient supprimé l'action des anticorps du sang ensemencé en fixant le complément (alexine) par l'adjonction au milieu de culture de sérum de lapin antihumain. Le milieu se clarifiait

rapidement par agglutination des hématies, et on observait plus rapidement le développement des germes (36 heures plus tôt environ).

Boez démontre que l'abaissement artificiel du pH sanguin détruit le pouvoir bactéricide du sang et recueille le sang sur une solution stérile de citrate acide de Na.

Cattan lui-même essaie de laver le "tapis leucocytaire" dans du sérum physiologique avant de l'ensemencer, mais reconnaît que les risques de souillures demeurent considérables.

Cecil, Nicholls et Stainsby imaginent un nouveau mode d'hémoculture qui leur permet d'éliminer le sérum. Ils ensemencent uniquement des "caillots de sang infecté". Mais la technique est compliquée et les risques de souillure assez importants.

Les succès de la microleucocytoculture dans les cas où l'hémoculture ne donnait aucun résultat s'expliquent enfin par le fait que, lors d'une bactériémie transitoire, les germes pathogènes sont "englobés par les leucocytes et transportés par eux encore vivants".

En conclusion, écrit Cattan, "il nous faut dire quels sont les rapports qui doivent à notre avis unir la microleucocytoculture et l'hémoculture. Celle-là ne peut tendre à détrôner celle-ci. Plus simple, plus directe, plus facile à confier à un personnel d'hôpital, l'hémoculture a largement fait ses preuves et suffit dans la majorité des cas.

La microleucocytoculture est plus délicate et nécessite une technique plus parfaite, une habileté de spécialiste et si, dans certains cas, elle donne de meilleurs résultats,

elle demande aussi beaucoup plus de soins.
Une place à côté de l'hémoculture ne peut
cependant pas, nous semble-t-il, être refu-
sée à notre méthode."

-:-

CONCLUSIONS

--

TECHNIQUE ACTUELLE DE L'HEMOCULTURE SYNTHESE D'HIER ET D'AUJOURD'HUI

--

Le meilleur critère de réussite d'une technique est sans doute sa généralisation sous une forme simple et unique : simple, pour ne pas limiter exagérément le nombre des utilisateurs, - unique, car lorsqu'elle devient satisfaisante, point n'est besoin d'aller chercher ailleurs.

C'est dans une certaine mesure ce qui s'est passé pour l'hémoculture. Avant de rappeler brièvement, en conclusion, la méthode actuelle, passons rapidement en revue son évolution.

Le problème essentiel a été très tôt celui du prélèvement du sang. Il consistait en ceci : recueillir dans les conditions d'asepsie les plus rigoureuses possibles une quantité suffisante de sang, et ce d'une façon commode, utilisable par tous, et aussi peu traumatisante que possible chez le sujet vivant, de façon à pouvoir renouveler ce prélèvement s'il en était besoin. La piqûre cutanée, lobe de l'oreille ou pulpe du doigt est le premier moyen envisagé. A de rares exceptions près, elle restera le seul, aussi longtemps qu'une seringue étanche, aisément et totalement stérilisable, ne sera pas mise à la disposition de l'expérimentateur.

On s'aperçoit très vite que la cause habituelle de souillure par des pyogènes banaux, tel le staphylocoque blanc, est la peau du sujet dont

on veut prélever le sang. La méthode de nettoyage de la peau, d'abord simple essuyage avec un linge stérile, se complique (savon et association de sublimé, alcool et éther) jusqu'au jour où l'on s'aperçoit de l'insuffisance de l'asepsie réalisée - du moins quand le sang vient en contact avec le plan cutané -. Ce problème ne se pose pas pour les autres germes pathogènes qui ne peuvent provenir de souillures.

Parallèlement, il devient nécessaire de prélever des quantités croissantes de sang. En effet l'hémoculture n'a vraiment d'intérêt qu'à la période où le sujet est justiciable d'une thérapeutique, donc où le germe est relativement rare dans le sang. Même dans les prélèvements faits durant l'agonie ou peu après la mort, une certaine quantité, de l'ordre du cm³, est nécessaire, mais son prélèvement est aisé chez le cadavre.

Les premières seringues stérilisables font leur apparition en France (Straus) et en Allemagne. Pendant une dizaine d'années elles sont utilisées en concurrence avec l'ancienne méthode dont elles prennent peu à peu la place. L'hémoculture prend de l'extension, une plus grande variété de germes (non plus uniquement des streptocoques) est découverte dans le sang, ce qui clarifie les idées quelque peu imprécises jusqu'alors de septicémie et de bactériémie. L'hémoculture dès lors prend rang parmi les méthodes usuelles en médecine, notamment pour certaines maladies, typhoïde en particulier. Les milieux employés se diversifient : certains, comme la gélose au sang, prenant une place de premier plan pour la culture de germes fréquemment rencontrés. Pratiquement, vers 1911, la teinture d'iode ayant remplacé les mélanges précédents dans la désin-

fection de la peau, la technique de l'hémoculture aérobie est devenue très proche de ce qu'elle est actuellement. L'histoire de l'hémoculture anaérobie, nous venons de le voir, marche avec un certain retard. Elle n'est guère employée de façon systématique, surtout avec le procédé de Veillon, qu'après 1931.

Aujourd'hui, un procédé simple et pratiquement standard est employé partout. Avec les thérapeutiques actuelles, antibiotiques surtout, l'isolement du germe responsable et son identification constituent des temps capitaux dans l'examen d'un septicémique. Suivant la définition de Gastinel et Reilly, l'état septicémique est lié " à des décharges, massives et répétées dans le sang de bactéries issues d'un foyer septique, appréciable ou non cliniquement". Ce foyer peut siéger sur l'endocarde (endocardites aiguës ou maladie d'Osler), dans le caillot d'une phlébite suppurée ou être disséminé dans les ganglions lymphatiques du mésentère (fièvre typhoïde - brucelloses). L'hémoculture permet la mise en évidence de germes, souvent très peu nombreux (3 ou 4 par cm^3) dans le sang périphérique. Il faut donc suffisamment de sang, mais, comme le fait remarquer Bingold, il n'en faut pas trop, car le développement des germes s'en trouverait gêné.

Le prélèvement se fera de préférence au moment d'une poussée fébrile ou après un grand frisson. On préparera systématiquement deux milieux : un aérobie, un anaérobie. Le milieu aérobie est constitué par 100 cm^3 (dans un ballon de 250 cm^3) de bouillon citraté.

Le milieu anaérobie : 10 cm^3 de gélose Veillon à laquelle on aura ajouté 30 cm^3 de bouillon peptoné et deux cm^3 de solution de glucose à 20 %. Cette gélose demi-molle est contenue dans un tube de Reilly en pyrex haut de 30 cm sur 2 cm de

diamètre. Ce tube est porté 10 minutes dans un bain marie bouillant pour en chasser l'air, puis maintenu dans l'eau à 40° jusqu'à l'ensemencement.

La seringue a été réservée à cet usage uniquement, et stérilisée toute montée avec son aiguille. La peau du sujet est désinfectée sur une surface assez large avec deux couches de teinture d'iode (et non d'alcool iodé).

Le prélèvement doit se faire sans aspirer, à raison de 15 cm³ environ et la seringue retirée sans que rien ne vienne en contact avec l'aiguille.

Col du ballon et aiguille sont rapidement flambés dans la flamme d'une lampe à alcool : 10 cm³ sont poussés dans le ballon et 2 cm³ dans le tube tenu horizontalement : on assure le mélange intime sang et milieu par rotation dans la même position, puis on le plonge verticalement dans un bain d'eau froide jusqu'à prise en masse. Les deux récipients sont placés à l'étuve à 37°. Quelques cas nécessitent une méthode un peu spéciale : si l'on suspecte une brucellose, on ajoutera aux deux milieux précédents un ballon qui sera maintenu à l'étuve en atmosphère de CO₂. Si on pense à une leptospirose : milieu au sérum de lapin maintenu à 29°.

Enfin, en dehors du milieu hospitalier, si le laboratoire est éloigné il faudra faire le prélèvement sur anticoagulant, en récipient stérile, et l'ensemencer au laboratoire.

La plupart des germes poussent en un ou deux jours, mais une hémoculture ne peut être considérée comme négative qu'après 6 jours environ. Si on suspecte un staphylocoque saprophyte cutané, germe de souillure de la culture, on fera

les tests classiques (coagulase - hémolysines - mannitol) permettant de le distinguer d'un staphylocoque pathogène. Dans le tube de Reilly, une seule colonie isolée de ce germe fera penser aussitôt à une souillure, car en cas de septicémie les colonies se comptent au moins par dizaines. C'est seulement en présence d'un staphylocoque blanc que la souillure du milieu devra être fortement suspectée.

Une hémoculture positive n'équivaut pas nécessairement à une septicémie, il en a déjà été question précédemment : il peut s'agir d'une bactériémie transitoire ou du passage dans le sang de "germes de sortie" (coli - proteus - pneumocoques) à la période terminale d'une autre affection.

Ce procédé d'hémoculture comporte sans doute des variantes suivant les auteurs et les pays, mais actuellement, les principes essentiels sont les mêmes et seuls des détails peuvent être modifiés. Si l'on excepte certains cas très spéciaux où de nouveaux procédés (hémoculture, par exemple) doivent être mis en œuvre, cette technique est suffisante, et à condition de respecter très soigneusement ses règles essentielles, offre une grande sécurité.

--

Vu :
Le Président :
signé : P. MOLLARET

Vu :
Le Doyen :
signé : L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
signé : Jean SARRAILH

BIBLIOGRAPHIE

-:-

PIORRY P.A.

Traité de Médecine Pratique et de Pathologie iatrique ou médicale.
(1847 Chap. XIV et XVII)

DAVAINE M.C.

Recherches sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de sang de rate.
(Comptes rendus hebdomadaires de l'Académie des Sciences, 1863, Tome 57, p.220)

DOLERIS J.A.

Essai sur la pathogénie et la thérapeutique des accidents infectieux des suites de couches.
(Juin 1880) (Thèse de Médecine, Paris, 1880)

PASTEUR L.

De l'extension de la théorie des germes à l'étiologie de quelques maladies communes.
(Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, 1880, t. 90, p. 1033)

CHAUVEL J.

In "Dictionnaire Encyclopédique des Sciences Médicales".
(1881, Tomes 8 et 9 : chapitre Septicémie) (sous la direction de A. DECHAMBRE)

STRAUS M.

Présentation d'une seringue à injections hypodermiques pouvant être facilement stérilisée.

(Comptes rendus hebdomadaires des Séances de la Société de Biologie, 1886, Tome 38, p. 37)

STRAUS M.

Progrès Médical (1886, 2ème semestre, p. 99).

EISELSBERG A.

Nachweis von Eitercoccen im Blute als diagnostisches Hilfsmittel.

(Wiener klinische Wochenschrift, 1890, n° 38, p. 730)

STRAUS M. et COLLIN

Sur une seringue à injections hypodermiques stérilisable, à piston en moelle de sureau.

(Comptes rendus des Séances de la Société de Biologie. 1891, 21 Janvier, Tome 43)

MALASSEZ D.

Perfectionnements apportés aux seringues tout en verre et stérilisables.

(C.R. Hebd. des Séances de la Société de Biologie 1891, 31 Janvier, Tome 43)

CANON P.

Zur Aetiologie der Sepsis, Pyämie und Osteomyelitis auf Grund bacteriologischer Untersuchungen des Blutes.

(Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, 1893, Tome 63, p. 570)

ETTLINGER C.

Etude sur le passage des microbes
pathogènes dans le sang.
(19 avr. 1893 - Thèse de Médecine,
Paris)

PETRUSCHKY J.

Untersuchungen des Blutes bei lebenden
Kranken.
(Zeitschrift für Hygiene und Infektions-
krankheiten) 1894, Tome 17)

STRAUS M.

Intervention sur "Tuberculose et in-
fections secondaires".
(Semaine Médicale, 1894, Tome 14,
p. 254)

SITTMANN G.

Bakterioskopische Blutuntersuchungen
(Deutsches Archiv für klinische Medizin.
1894, Tome 53, p. 323)

LEBRETON M.

Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux. Communication à l'occasion
d'un purpura infectieux.
(26 janv. 1894, Tome 11, p. 39)

WIDAL F.

Idem : discussion.

NETTER M.

Communication sur une infection pneumo-
coccique généralisée.
(Bulletin de la Soc. Médicale des Hô-
pitaux, 1894, 27 mai, p. 357)

HULOT H.J.

Infections d'origine cutanée chez les
enfants.
(Thèse de Médecine, 15 mai 1895, Paris)

ACHALME P.

Endocardite rhumatismale.

(Archives de Médecine expérimentale,
1898)

BUSQUET

Présence constante du bacille d'Eberth
dans le sang des typhoïdiques.

(Presse Médicale, 15 janvier 1902, p. 54)

COURMONT J. et LESIEUR C.H.

La présence des bacilles d'Eberth dans
le sang des typhiques. Applications
au diagnostic précoce dans la fièvre
typhoïde.

(Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux, 1902, 5 Déc)

LENHARTZ H.

Spezielle Pathologie und Therapie
innerer Krankheiten. Die septische
Erkrankungen : akute Infektionskrank-
heiten.

(1902, Tome III 2, p. 86)

LEMIERRE A.

L'ensemencement du sang durant la vie,
procédé d'investigation clinique.

(Thèse de Médecine, 21 juillet 1904,
Paris)

JOCHMANN M.

Infektions Krankheiten.

(Handbuch der inneren Medizin , 1911,
p. 580)

SCHOTTMULLER

Die typhösen Erkrankungen.

(Handbuch der inneren Medizin, 1911)

WIDAL F., LEMIERRE A., ABRAMI P., KINDBERG L.
Ictère grave d'origine hémolytique dû
au *Bacillus Perfringens*.
(Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux, 1911, Tome 32)

AGASSE-LAFONT E.
Les applications pratiques du laboratoire à
la clinique.
(1920, p. 372)

BESANÇON F.
Précis de Microbiologie clinique
(1920, p. 759)

VEILLON A.
Infections putrides et gangréneuses.
(Nouveau Traité de Médecine, sous la
direction de MM. Roger Widal et Tessier,
1920)

SACQUEPEE E.
Septicémies. Infections putrides et
gangréneuses.
(Nouveau Traité de Médecine par MM.
Brouardel, Gilbert et Carnot, 1922,
chap. X)

BOEZ L.
Dispositif pour l'hémoculture anaéro-
bie en milieu solide.
(Comptes rendus hebdomadaires de la
Société de Biologie 21 novembre 1924,
Tome

BOEZ et KELLER
Septicémie anaérobie à *Micrococcus*
foetidus de Veillon. Diagnostic par la
méthode d'hémoculture anaérobie en
milieu solide.
(Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux de Paris, 26 déc. 1924)

BOEZ et HOLTZMANN

Septicémie à *Bacillus Ramosus*.
(Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux de Paris, 26 déc. 1924)

VAUCHER, BOEZ, LAUZENBERG, KEHLSTADT

Septicémie à bacilles anaérobies
(nouvelles espèces) diagnostiquée par
la méthode d'hémoculture en milieu
solide.
(Bulletin de la Société Médicale des
Hôpitaux de Paris, 1925, Tome 2)

VAUCHER E. et WORINGER P.

Bactériémies et septicémies dues à des
anaérobies.
(Le Journal Médical Français, avril
1925, Tome XIV, n° 4)

LEMIERRE A. et DESCHAMPS P.N.

Septicémies streptococciques.
(Le Journal Médical français, 1925,
Tome XIV)

GASTINEL et REILLY J.

Sémiologie des Septicémies médicales.
(Rapports au Congrès Français de
Médecine, XIXème Session, 1927, Paris)

De LAVERGNE V.

Formes cliniques des septicémies
aiguës ou chroniques spécifiques
(idem).

RANQUE et SENEZ

Hémoculture rapide par ensemencement
du sang désalexiné.
(Comptes Rendus Soc. Biol. 1921,
Tome 89)

CECIL R.L., NICHOLLS E.E., STAINSBY W.J.
The bacteriology of the blood and
joints in chronic infections arthritis.
(Archives of Intern.Medicine, Mai 1929,
T. 43)

CATTAN R.

Une nouvelle méthode d'ensemencement
du sang pendant la vie : la microleuco-
cytocolture. Contribution à l'étude
des septicémies.
(Travail du service de M. le Dr Noël
Fiessinger, 1930)

TEISSIER P., REILLY J., RIVALIER E.,
STEFANESCO V.

Les septicémies primitives dues au
Bacillus funduliformis. Etude clinique,
bactériologique et expérimentale.
(Annales de Médecine, Juillet 1931,
Tome 30, n° 2)

PASTEUR L.

Oeuvres recueillies par le Professeur
Pasteur Vallery-Radot. Maladies viru-
lentes , Virus, Vaccins, Rage.
(1933, Masson, Tome VI p. 135 et svtes)

VILLARET et MOUTIER

La singulière histoire de l'injection
intraveineuse.
(Revue "Hippocrate", 1933, p. 784)

LIEBERMEISTER G.

Infektionskrankheiten : Sepsis.
(Handbuch der inneren Medizin.
Berlin 1934 , Tome I)

DUBOS R.J.

Bacterial and mycotic infections of man
(1952).

BINGOLD K.

Infektionskrankheiten : die septische
Erkrankungen.

(Handbuch der inneren Medizin, IVème
éd. 1952, Tome I, 1ère partie, p.943)

TOURNIER P.

Les septicémies. Diagnostic
bactériologique d'un état septicé-
mique.

(Vie Médicale, Juin 1956)

